DAS

CHOLERA-CONTAGIUM.

BOTANISCHE UNTERSUCHUNGEN,

AERZTEN UND NATURFORSCHERN

MITGETHEILT

VON

Dr. ERNST HALLIER,

PROFESSOR ZU JENA.

MIT EINER KUPFERTAFEL.

LEIPZIG,

VERLAG VON WILHELM ENGELMANN.

1867.

HERRN

GEHEIMEN MEDICINALRATH

PROFESSOR D^R. GRIESINGER

WIDMET DIESE BLÄTTER

ALS ZEICHEN

HÖCHSTER VEREHRUNG UND DANKBARKEIT

DER VERFASSER.

Hochverehrter Herr Geheimer Rath!

Wenn die auf den folgenden Seiten mitgetheilten Untersuchungen nicht ganz ohne Verdienst sein sollten, so gebührt Ihnen bei weitem der grösste Theil davon. Ihre freundliche, aufopfernde, thätige und theilnehmende Unterstützung förderte eine Arbeit, welche ohne jene vielleicht in Jahren kaum zur Reife gediehen wäre.

Nehmen Sie die Resultate meiner Bestrebungen nachsichtig auf und seien Sie überzeugt von der zeitlebens dankbaren Gesinnung Ihres ergebensten

Jena,
am 19. Juni 1867.

Ernst Hallier.

Vorwort.

Seit ich die Schriften der Herren Professor Klob [1]) und Dr. Thomé [2]) über die im Darm Cholera-Kranker gefundenen Organismen gelesen und auf dem Cholera-Congress zu Weimar die mikroskopischen Präparate des Herrn Dr. Thomé gesehen hatte, zweifelte ich keinen Augenblick mehr daran, dass es bei Wiederausbruch der Cholera in diesem Jahr gelingen werde, die Frage nach dem etwanigen pflanzlichen Cholera-Contagium zu entscheiden und ebenso fest durfte ich überzeugt sein, dass es mir bei Erlangung von Arbeitsmaterial glücken werde, die Natur und Entwickelungsgeschichte des fraglichen Organismus zu enthüllen.

Diese Zuversicht gründete sich auf meine durch jahrelanges Studium erworbene genaue Kenntniss von den Hefebildungen und den höheren Entwickelungsstufen der Gruppe oder richtiger der Form der *Ustilagineen*. Ich konnte mich daher auch in Weimar nur negativ verhalten gegenüber den ganz vagen und unbestimmten Aeusserungen des von den Herren Klob und Thomé zur Abgabe eines Votums veranlassten botanischen Fachgenossen. Um indessen einen für die Versammlung unfruchtbaren und unerquicklichen Streit über Thatsachen und Principien zu vermeiden, begnügte ich mich mit der Angabe, dass ich mir

1) J. M. Klob, Pathologisch-Anatomische Studien über das Wesen des Cholera-Processes. Leipzig, 1867.

2) O. W. Thomé, *Cylindrotaenium cholerae asiaticae*, ein neuer, in den Cholera-Ausleerungen gefundener Pilz. Virchow's Archiv. Bd. 38. XIV. Taf. VII. p. 221—244.

allerdings nach den vorliegenden Arbeiten und nach eigenen sechsmonatigen Studien über die Hefebildungen eine ganz bestimmte Ansicht über den fraglichen Cholera-Pilz gebildet hätte; für die Kenntnissnahme von dieser Ansicht verwies ich jedoch auf meine gegenwärtig schon im Buchhandel befindlichen Gährungserscheinungen [1]).

Der Cholera-Pilz ist in seiner dem Darm eigenthümlichen Fruchtform schon im Jahr 1849 von Swayne, Brittan und Budd entdeckt worden. Alle späteren Forscher, namentlich die neuesten, haben ihn ganz übersehen und konnten daher auch unmöglich zu seiner weiteren Erkenntniss gelangen. Aber auch jene Engländer scheinen ihrer Sache nicht sehr sicher gewesen zu sein, denn sie waren nicht im Stande, ihre Ueberzeugung gegen die ihnen gemachten Einwände zur Geltung zu bringen [2]).

Dass es mir gelungen ist, den Cholera-Pilz zum zweiten Mal zu entdecken und durch Culturversuche seine ganze Entwickelungsgeschichte und Lebensweise zu enthüllen, ist nur zum kleinen Theil mein Verdienst. Ich verdanke es zum grössten Theil dem ebenso gütigen als thätigen Interesse des Herrn Geheimen Medicinalrath Griesinger in Berlin, dass ich so bald und sicher an das Ziel meines Strebens gelangt bin, den Cholera-Pilz zu entlarven und ich benutze die Gelegenheit, um Herrn Geheimen Medicinalrath Griesinger, ferner Herrn Dr. Sander, Assistenten an der neuen Charité, Abtheilung für Nervenkranke, der mir in freundlichster Weise seine Zeit widmete, Herrn Geheimen Medicinalrath Reichert, der die Benutzung eines Zimmers der Anatomie zu Fütterungsversuchen gütigst gestattete, den Herren Dr. Jastrowitz in Berlin und Dr. Graf in Elberfeld, welche mich mit schönem Material versorgten, Herrn Dr. Dönitz und vielen anderen Herren, welche das freundlichste Interesse an meinen Untersuchungen nahmen, meinen besten Dank zu erkennen zu geben.

---

1) E. Hallier, Gährungserscheinungen. Untersuchungen über Gährung, Fäulniss und Verwesung mit Berücksichtigung der Miasmen und Contagien sowie der Desinfection. Leipzig, 1867.

2) Vergl. u. a. Ch. Robin, *Histoire naturelle des végétaux parasites qui croissent sur l'homme et sur les animaux vivants.* A. Paris, 1853. p. 676. Daselbst findet man die engl. Literatur angeführt; dazu: Atlas. Pl. XII. Figg. 4. 5.

Herr Dr. Jastrowitz hatte von der vorjährigen Epidemie (1866) Material von Reiswasserstühlen in verkorkten Flaschen aufgehoben und hatte die grosse Güte, mir dasselbe zur Verfügung zu stellen. Am 17. Mai d. J. fand ich darin grosse Mengen von *Ustilagineen*-Früchten und von denselben entwickelte Hefe-Kolonieen. Die Früchte liessen sich leicht als zur Gattung *Urocystis* gehörig erkennen und zwar der Form nach mussten sie zu einer mir ganz unbekannten Art gehören.

Am 21. und 22. Mai hatte ich die Ehre, der Gesellschaft naturforschender Freunde Berlins und der medicinischen Gesellschaft daselbst Mittheilung über meine Hefestudien zu machen und sprach zum ersten Mal meine Ansicht aus, dass die in den Cholera-Stühlen von den Herren Klob und Thomé, dann von mir und von Anderen aufgefundenen gelatinösen Ballen die *Micrococcus*-Kolonieen irgend einer *Ustilagineen*-Frucht seien.

Jetzt, nach 44 Culturversuchen und verschiedenen Fütterungen bin ich im Stande, völligen Aufschluss über die pflanzliche Natur des Cholera-Contagiums zu geben und lege dem medicinischen und naturwissenschaftlichen Publicum die Resultate meiner Studien vor mit der Bitte um ebenso wohlwollende und nachsichtige Aufnahme wie sie im Allgemeinen meine bisherigen Arbeiten gefunden haben.

Jena, Ende Juni 1867.

Der Verfasser.

Inhaltsübersicht.

Seite

Vorwort VII

I. Untersuchung des pflanzlichen Befundes in den Cholera-Stühlen 1

1. Untersuchung des Reiswasserstuhls von Berlin aus der Epidemie 1866 1

2. Untersuchung des Stuhls und des Erbrochenen von Cholera-Kranken zu Elberfeld von 1867 5

II. Culturversuche 6

1. Culturen mit dem Reiswasserstuhl von Berlin 6

2. Culturen mit dem Material von Elberfeld 20

III. Morphologische Resultate der Culturen 23

IV. Culturen bezüglich der thermischen Bedingungen der Cystenbildung . . 25

V. Culturen mit dem Cholera-Pilz in Bezug auf einige Desinfectionsmittel . 28

VI. Unter welchen Verhältnissen vegetirt der Cholera-Pilz in Indien? . . . 33

VII. Fütterungsversuche 36

VIII. Ist der Cholera-Pilz mit dem Cholera-Contagium identisch? 37

I. Untersuchung des pflanzlichen Befundes in den Cholera-Stühlen.

Ich beschränke mich hier ganz streng auf die pflanzlichen Vorkommnisse, da einestheils der pathologische Zustand des Darms und die im Darminhalt gefundenen thierischen Elemente schon oft und gründlich beschrieben worden sind und da ich anderentheils hier alles ausschliessen möchte, was nicht streng in mein Fach gehört. Ich werde daher z. B. die im Darminhalt aufgefundenen Epithelialzellen nur soweit berücksichtigen, als die im Darme vorkommenden Pflanzen zu ihnen eine Beziehung zeigen.

Das mir zur Untersuchung zugänglich gewordene Material stammte, wie ich schon in der Vorrede dankbar erwähnte, von zwei verschiedenen Bezugsplätzen, aus zwei verschiedenen Jahrgängen. Da ich die Untersuchung beider zu verschiedenen Zeiten vornahm, so sollen sie auch hier in der Darstellung getrennt werden, zumal, da die beiden Materien zwar nicht wesentlich verschieden waren, aber doch in einigen Puncten Abweichungen zeigten.

1. Untersuchung des Reiswasserstuhls von Berlin aus der Epidemie 1866.

Das Material stammte von einem Cholera-Kranken, der an keiner anderen, die Beurtheilung störenden Krankheit gelitten hatte und von der Cholera völlig genesen war. Herr Dr. Jastrowitz hatte dasselbe in einem Arzneiglas gut verkorkt aufgehoben. Für die gute Erhaltung zeugte die Geruchlosigkeit des Inhalts, das Vorhandensein der gleich zu beschreibenden Früchte, die alkalische Reaction, der Mangel anderer Hefe als die in den Cholera-Entleerungen stets vorkommende. Gegen das Eindringen fremder Pilzsporen zeugte die Abwesenheit aller den Cholera-Stühlen fremden Pilzelemente, vor allen Dingen aber der

Umstand, dass später bei 13 mit diesem Material vorgenommenen Culturen nicht ein einziges Mal ein Pilz auftrat, der nicht in den Generationswechsel des Cholera-Pilzes gehörte. Die sicherste Bürgschaft für den dichten Verschluss des Glases lag aber in dem gänzlichen Mangel aller Mycelbildungen wie überhaupt jeder Spur von Keimung der massenhaft in der Flüssigkeit vorhandenen Pilzelemente.

Ich habe schon erwähnt, dass ausser jenen englischen Forschern alle, die sich mit der Cholera beschäftigten, den eigentlichen Cholera-Pilz gänzlich übersehen haben. Natürlich ist das nicht zufällig, sondern hat einen bestimmten, in der Natur dieser Gebilde liegenden Grund. Man könnte glauben, dass die erwähnten Früchte nur selten in den Stühlen vorkämen und ich werde später zeigen, dass ihr Vorkommen nicht absolut nothwendig ist, dass sich vielmehr die aus jenen Cysten gebildete Hefe (*Micrococcus*) auch ohne Neubildung der höheren Entwickelungsstufen des Pilzes von Körper zu Körper fortpflanzen kann.

Dennoch glaube ich nicht, dass jene Fruchtbildungen in den Cholera-Dejectionen jemals ganz fehlen, denn sie sind ausser jenen drei Engländern nicht nur zweimal von mir, sondern früher schon von mehren englischen Forschern aufgefunden worden, welche an ihrer pflanzlichen Natur durchaus zweifelten.

Dass Spätere sie nicht fanden, rührt daher, dass sie ziemlich schwer sind, daher zu Boden sinken. Ich bediente mich, um alle, auch die schwereren Körper in der Flüssigkeit genau studiren zu können, eines kleinen Kunstgriffs, den ich hier mittheilen will in der Ueberzeugung, dass man mit Hülfe desselben künftig in jedem Stuhl die Früchte auffinden werde. Ich liess das Arzneiglas eine Zeitlang umgekehrt stehen, bevor ich es öffnete, indem ich es auf den Kork stellte und oben befestigte. Dadurch wurden alle schwereren Partikelchen nach und nach in den engen Hals der Flasche zusammengedrängt. Ich öffnete später den Kork vorsichtig in derselben Lage und liess das unten Angesammelte in ein kleines Gefäss laufen. Später erst entleerte ich einen grösseren Theil des Inhalts in ein grösseres Gefäss und konnte mit Bequemlichkeit mich sowohl der schweren als der leichteren Partikelchen bemächtigen.

Es zeigte sich, dass die schwimmenden Speisereste, Epithelzellen etc. fast nur Hefe enthielten, während die schweren Körper zum grossen Theil aus Pilzfrüchten bestanden.

Bei dem Elberfelder Material erreichte ich ganz dasselbe durch wiederholtes vorsichtiges Dekantiren der Gläser mit eingeriebenen Glasstöpseln. Zuletzt blieb ein Bodensatz zurück, welcher fast alle Früchte enthielt.

Mein Erstaunen, in dem Berliner Material *Urocystis*-Früchte in grosser Anzahl aufzufinden, war nicht gering und um so mehr gerechtfertigt, als ich gerade in jüngster Zeit die *Urocystis occulta Rab.* unseres Getreides genau zu untersuchen Gelegenheit gehabt hatte und eine ausserordentlich grosse Analogie zwischen ihren Hefebildungen und den in den Cholera-Stühlen gefundenen erkannte.

Einige der Vorkommnisse in dem Berliner Stuhl findet man Figg. 1—4 abgebildet. Man sieht Massen chromgelber oder goldgelber, seltener bräunlicher oder rothbrauner Körper. Zum Theil (Fig. 2) haben sie auf den ersten Blick eine höchst unregelmässige Gestalt, als ob sie anorganischen Ursprunges wären. Hier und da findet man einzelne (Fig. 4 *u*) kugelrunde oder länglichrunde Cysten, in denen eine Anzahl von glänzenden gelblichen Zellen (Sporen) eingeschlossen ist. Diese Cysten kommen in sehr verschiedener Grösse vor (Fig. 2 *c*, Fig. 4 *c*, *u*). Die vorherrschende Gestalt ist, besonders bei den grösseren, die Kugelform. Auch die Grösse der Sporen ist sehr verschieden, wie man aus dem Vergleich der Figg. 2 *cf*, 4 *u*, *c*, *of* ersieht.

Oft sind die Cysten offenbar im Zerfallen begriffen und zwar in zweifacher Weise. Entweder wird die in diesem Falle meist noch dünne Wand der Cyste durch die quellenden Sporen gesprengt (Fig. 4 *o*), oder die Cystenwand quillt gelatinös auf und löst sich allmählich vollständig, wodurch die Sporen frei werden. In diesem Fall sind aber in der Regel die Sporen schon vor ihrer Befreiung in *Micrococcus*-Kolonieen umgewandelt.

Gar nicht selten sieht man die ihrer Sporen beraubten Cysten (Fig. 2 *h*, *l*) leer und zerrissen umherliegen. Bilden die Sporen, wie es weit häufiger der Fall ist, durch fortgesetzte Theilung des Kerns[1]) *Micrococcus* aus, so wird Sporenwand und Cystenwand gelatinös, stark verdickt und weich, wovon man sich leicht durch Druck auf das Deckglas überzeugen kann. Man sieht jetzt die Sporen meist nicht mehr deutlich durch die dicke Cystenwand hindurch und das giebt den Früchten und Fruchthaufen jenes wunderliche Ansehen (Fig. 2, *a*), welches Robin zu der irrigen Ansicht verleitete, die von den englischen Forschern als Pilze aufgefassten Gebilde seien unorganischer Natur. Robin kannte die Früchte aber gar nicht, es war daher höchst unvorsichtig von ihm, nach blosser Ansicht der Original-Abbildungen dieselben ohne Weiteres zu verurtheilen. Die erwähnten Cystenhaufen haben meist das Ansehen unförmlicher gelatinöser Massen und erst bei genauerer Prüfung erkennt man darin eine organische Structur.

1) Vergl. meine »Gährungserscheinungen«.

Oft sind die Cysten schon unvollständig geworden (Fig. 2 *l*) und wenn nun die Inhaltskörper (Sporen) sich nicht deutlich unterscheiden lassen, so kann man sich kaum einreden, dass hier ein Theil einer Cyste vorliege. Druck auf das Deckglas entscheidet aber auch hier sehr leicht.

Ich darf indessen nicht unterlassen, hier zu warnen vor der Verwechselung der Cysten mit Fettmassen, auf denen sich Hefe angesiedelt hat. Ganz sicher ist man selten in der Beurtheilung zerfallender Cysten bevor man Druck in Anwendung gebracht hat. Durch diesen Kunstgriff lässt sich aber in allen Fällen leicht und sicher die zerfallende Cyste von einem auf Fetttröpfchen abgelagerten Hefeballen unterscheiden.

Die Hefe, welche von Klob und anderen nach ihm mit Cohn's *Zoogloea* verglichen worden ist, entwickelt sich nach meinen Culturversuchen folgendermassen. Die in Freiheit gesetzten Sporen haben in der Regel schon bevor sie die Cyste verliessen ihren Kern mehrfach getheilt. Sie besitzen einen so starken Glanz, dass man über die Beschaffenheit ihres Innern nur nach Anwendung künstlicher Hülfsmittel Aufschluss erhält. Sie quellen dabei sehr stark auf und erscheinen in den Cholera-Stühlen als grosse gelatinöse Kugeln (Fig. 1), welche bald einzeln, bald haufenweis beisammen liegen. Oft erkennt man an der Form des Haufens noch deutlich die Gestalt der ursprünglichen Cyste. Gar nicht selten setzen die einzelnen Sporen, während sie schon im Begriff stehen, ihren *Micrococcus* auszubilden, den Theilungsproeess noch fort (Fig. 4 *a, b*). Dieses interessante Factum habe ich schon bei mehren *Ustilagineen* beobachtet und beschrieben [1]).

Da die *Micrococcus*-Zellen im Innern der sich auflösenden Sporenwand ihren Theilungsprocess in's Unendliche fortsetzen, so müssen zuletzt grosse kugelige Ballen von *Micrococcus* (Fig. 3 *m*) entstehen, deren oft eine grössere Anzahl beisammen liegt (Fig. 3 *k*). Endlich überschreiten sie die Grenze der völlig aufgelösten Sporenwand (Fig. 3 *b*) und bilden ganz unregelmässige Haufen. Die Haufen sind oft ungemein gross und bisweilen lässt sich noch erkennen, dass ein solcher grosser Haufen einer früheren Cyste entspricht.

Der *Micrococcus* siedelt sich auf allen in der Flüssigkeit befindlichen Körpern, auf vegetabilischen und thierischen Speiseresten, auf Stärkekörnern (Kleister), Muskelfasern und Fetttropfen, auf pflanzlichen Zellen und ganz besonders auf dem Darmepithelium an und alle stickstoffreichen Körper gehen unter dem Einfluss dieses *Micrococcus* in faulige Zersetzung über.

---

1) Vergl. Landwirthschaftliche Versuchsstationen v. F. Nobbe 1867.

Man kann dem *Micrococcus* ziemlich sicher ansehen, ob er aus den Cysten hervorgegangen ist oder nicht, denn in jenem Fall hat er eine mehr oder weniger deutliche gelbe oder braune Farbe, ähnlich den Cysten. Bisweilen sind aber sowohl die Cysten als auch der *Micrococcus* völlig farblos. Ausser den soeben geschilderten Elementen kommen an pflanzlichen Zellen nur noch *Torula*-ähnliche Bildungen (Fig. 3 *t*) vor, welche, wie ich experimentell nachgewiesen habe, aus *Micrococcus*-Zellen hervorgehen. Schon innerhalb der Kolonieen (Fig. 3 *k*) sieht man manche Kerne sich vergrössern, so dass die Kolonie oft aus Kernen verschiedener Grösse besteht. Es ist dies der Uebergang zur Ausbildung einer höheren Pilzform, einer *Oidium*-Bildung. Man sieht in der Flüssigkeit zahlreiche äusserst zartwandige Zellen (Fig. 3 *t*), theils einzeln, theils in kleinen Ketten, jede Zelle mit einem glänzenden Kern versehen. Der Brechungsexponent dieser Zellen liegt dem des Wassers so nahe, dass sie meist erst nach Zusatz von Glycerin oder Zucker deutlich sichtbar werden. Ich komme später auf diese Gebilde zurück.

2. Untersuchung des Stuhls und des Erbrochenen von Cholera-Kranken zu Elberfeld von 1867.

Herr Dr. Graf in Elberfeld hatte die Güte, mir Anfang Juni 4 Gläser Cholera-Dejectionen, 2 mit Stuhlinhalt, 2 mit einem Gemisch von Erbrochenem und Stuhl zuzusenden. Die Gläser waren mit eingeriebenen Stöpseln versehen, mit Blase verklebt und verbunden und sehr gut verpackt.

Ich schritt sofort zur Untersuchung, welche genau dasselbe Resultat ergab wie die Untersuchung des Berliner Materials; nur fanden sich sowohl Cysten als Hefekolonieen in den Elberfelder Dejectionen in geringerer Menge vor. Der Inhalt der Gläser hatte beim Oeffnen einen schwachen aber sehr unangenehmen, dem gewöhnlichen Fäcalgestank jedoch nicht ähnlichen Geruch. Die Gläser mit blossem Stuhlinhalt zeigten stark alkalische, die mit dem Erbrochenen schwach saure Reaction. Sehr schön konnte man in dem Inhalt erster Art die verschiedensten Grade der Belagerung und Zerstörung des Darmepithels durch den *Micrococcus* studiren. Es ist dies, wie ich mehrfach gezeigt habe, die Art und Weise, wie stets die Zerstörung eines thierischen Gewebes durch einen pflanzlichen Parasiten beginnt. Die *Micrococcus*-Zellen setzen sich in grosser Anzahl auf den Gewebeelementen fest, vermehren sich auf denselben und zersetzen sie. Herr Dr. Thomé hat durchaus Recht, wenn er diesen kleinen Zellen die Zerstörung der Darmwand, zunächst des Epithels zuschreibt, denn wie wir später sehen

werden, zerstören sie jeden stickstoffreichen organischen Körper, sobald Feuchtigkeit und genügende Wärme vorhanden. Sie sind in unserem Fall stets gelb oder braun gefärbt und geben daher den Epithelzellen ein meist dunkelbraunes Ansehen.

Ich habe eine Anzahl mikroskopischer Präparate von allen Vorkommnissen, die ich in den Cholera-Entleerungen fand, sowie von allen bei meinen Culturen aufgefundenen Formen vertheilt und will daher auf den Tafeln mit den Figuren möglichst sparsam umgehen, um den Abdruck dieser Mittheilungen nicht unnöthig zu verzögern. Sollten sich noch Interessenten für meine Präparate finden, so steht mein Vorrath jedem darum Anfragenden zu Gebote.

Im Erbrochenen der Cholera-Kranken fand sich ein sehr merkwürdiges Vorkommniss, nämlich sehr schön fruktificirende Exemplare von *Penicillium crustaceum Fr.* Die Pinsel sind kräftig ausgebildet, die Sporen ungewöhnlich gross. Es ist dieses das erste Mal, dass ich *Penicillium* im Innern des menschlichen Körpers fruktifizirend angetroffen habe und sehr beachtenswerth ist dieses Factum bei der sauren Reaction des Mageninhalts.

II. Culturversuche.

Da ich wusste, dass ich es in den Cholera-Reiswasserstühlen mit einer *Ustilagineen*-Form oder nach meiner Ausdrucksweise mit einer anaërophytischen Form zu thun hatte, so konnte die Methode der Aussaaten mir nichts Schwieriges haben, denn ich hatte mich lange genug mit derartigen Versuchen beschäftigt. Ich griff daher zu denjenigen Mitteln, welche mir in analogen Fällen die besten Dienste gethan hatten und der Erfolg lohnte meine Anstrengungen früher als ich erwartet hatte.

Des leichteren Verständnisses halber lasse ich hier jede Cultur für sich allein folgen und füge den Verlauf derselben sofort hinzu.

1. Culturen mit dem Reiswasserstuhl von Berlin.

Nr. 1 [1]). Aussaat auf Zuckerlösung im Culturapparat [2]) am 28. Mai bei 16—25° R. Zimmerwärme.

---

1) Ich mache darauf aufmerksam, dass die Nummern der von mir vertheilten Präparate mit den hier benutzten und denen meines Tagebuchs übereinstimmen.

2) S. meine »Gährungserscheinungen«. p. 16. Fig. 3.

Am 3. Tage zeigte sich an der Oberfläche der Flüssigkeit ein äusserst zarter Beleg, bestehend aus sehr kleinzelligem *Micrococcus* (Fig. 5), zum Theil in *Torula*-Bildungen übergehend, zum Theil *Cryptococcus* darstellend. Auch *Leptothrix*-Ketten kamen die ersten Tage an der Oberfläche zur Ausbildung, zerfielen aber bald wieder. Vom 4. Tage an bildete der *Micrococcus* eine ganz dichte zarte Haut (*Mycoderma*), welche beim Abheben oft in rundliche Ballen zerriss, den Kolonieen ähnlich.

Im Lauf der folgenden Tage keimten die *Torula*-Zellen zu kettentragenden Fäden (Fig. 6) aus und bildeten solchergestalt ein sehr kräftiges *Oidium lactis* in der Form, wie es den Uebergang zur *Mucor*-Bildung andeutet (Fig. 7).

Dr. Thomé's *Cylindrotaenium cholerae asiaticae* ist nichts Anderes als dieses *Oidium lactis Fres.*, welches zur Species: *Penicillium — Mucor — Achlya — Tilletia* gehört und ich werde bei Besprechung der übrigen Culturen zeigen, dass Thomé mit der Auffindung dieses *Oidium* allerdings den ersten Schritt zur Entdeckung des Cholera-Pilzes gethan hatte.

Die *Oidium*-Pflanzen (Fig. 7) haben ganz die Form, welche stets dem *Mucor racemosus Fres.* vorhergeht[1]). An den Zweigenden eines hie und da septirten (Fig. 7 *s*), mit körnigem Plasma erfüllten Fadens stehen einzeln oder in kleineren und grösseren Ketten die *Macroconidien* (Fig. 7 *m*), welche dazu bestimmt sind, durch Keimung die *Mucor*-Pflanze hervorzubringen. Je grösser und kräftiger die *Macroconidien* sind und in je geringerer Anzahl sie beisammen stehen, um so sicherer geht aus ihnen *Mucor* hervor und man muss eigentlich diejenige Form, wo an jedem Zweigende nur eine *Macroconidie* steht, als Normalform für die *Mucor*-Bildung betrachten, während die in Ketten stehenden, meist kleineren Conidien mehr zur Ausbildung des *Penicillium* geeignet sind. Hier im Zuckerwasser sind die *Macroconidien* offenbar in einem kümmerlichen, degenerirten Zustand, daher bringen sie auch nur sehr selten an ihren Keimlingen *Mucor*-Kapseln hervor. Ich lasse hier die stets unfruchtbaren, gar keine oder doch keine keimfähigen Sporen enthaltenden im Zuckerwasser entstehenden *Mucor*-Kapseln und ebenso die zu *Achlya* gehörigen, nicht minder degenerirten Bildungen ganz ausser Acht, da sie wohl morphologisches Interesse darbieten, zur Cholera-Frage aber indifferent dastehen. Erinnern muss ich aber an das höchst merkwürdige Auftreten der *Macroconidien* und *Mucor*-Bildungen in diesem schwach nährenden Medium an sich. Man kann

1) Vergl. H. Hoffmann. *Icones analyticae fungorum.* Giessen, 1865. Taf. 20.

noch so oft *Penicillium crustaceum Fries* oder *Mucor racemosus Fresenius* auf Zuckerwasser aussäen: niemals wird man ein anderes Keimungsproduct als fruktificirende *Penicillium*-Pflanzen erhalten. Ich habe aber schon oft Gelegenheit gehabt, darauf hinzuweisen, dass nicht bloss die Sporen und vegetativen Zellen eines Pilzes, sondern auch der *Micrococcus* ein Naturell besitzen. Aus *Mucor* erzeugt sieh auf gleichem Boden leichter *Mucor*, aus *Penicillium* leichter *Penicillium*, in beiden Fällen sowohl aus den Sporen als aus Hefezellen. Die Trockenhefe erzeugt auch auf schlechtem Boden meist *Mucor*, obgleich sie aus *Cryptococcus* von *Penicillium* entstanden ist. Sie ist nämlich bei ihrer Bereitung im Stande gewesen, bei höherer Temperatur und auf günstigem Boden eine grössere Menge Stickstoff aufzunehmen. Im Stickstoffgehalt der *Micrococcus*-Zellen und des »körnigen Plasma's« seheint das ganze Geheimniss dieses Naturells zu liegen.

In unserem Fall ist die *Macroconidien*-Pflanze (Fig. 7) das Keimungsproduet von Sporen und *Micrococcus*-Zellen aus den Cholera-Cysten. Wenn diese erste Cultur, bei der ieh schon die Keimung genau verfolgte, dafür noch nicht als ausreichender Beweis gelten sollte, so werde ich doch im Folgenden noeh sehlagendere Belege aufzuführen haben und es wird sich zeigen, dass der Cholera-Pilz unter Verhältnissen vegetirt, welche ihm ermöglichen, ja ihn zwingen, einen hohen Stickstoffgehalt aufzunehmen. Es bildet sich also hier auf dem Zuckerwasser die zu *Mucor* gehörige Form aus, weil die Keimlinge aus den Sporen der Cysten und deren *Micrococcus* hervorgehen. Hätte ich nur diese eine Cultur unternommen, so würde das Resultat ein höchst unsicheres sein, ja ich würde nicht gewagt haben, es auszusprechen.

Im Anfang der Cultur glaubte ich auch durchaus keinen Zusammenhang zwischen den Cysten und den *Macroconidien* annehmen zu dürfen, glaubte mich vielmehr über die Keimung des gelben *Micrococcus* getäuscht zu haben, denn bei eifrigem Suchen fand ieh doeh nichts, was an die Cysten erinnerte, sondern nur den gemeinen Schimmelpilz, dessen *Micrococcus* beständig im menschlichen Darm lebt, dessen Auftreten, freilich in der Form, welche zu *Penicillium* gehört, man daher von vornherein erwarten durfte.

Erst am 6. Juni, also 9 Tage naeh der Aussaat, sah ieh an einzelnen Zweigen der *Macroconidien*-Pflanze grosse Cysten auftreten. Sie waren blass, ihre kugeligen Inhaltskörper (Fig. 7 *c*) mattglänzend und wie im Zerfall begriffen. Andere Zweige (Fig. 7 *d c*) entwickelten Cysten, die offenbar im Degeneriren begriffen waren, denn man konnte die einzelnen Inhaltskörper gar nicht deutlich unterscheiden und die

Cysten waren ganz unregelmässig gestaltet, bald schlangenartig gewunden, bald sackförmig und zuletzt ihren körnigen Inhalt ergiessend. Ich erinnerte mich bei Culturen von *Penicillium-Mucor* auf stickstoffreichen Substanzen an heissen Sommertagen ähnliche Degenerationen gesehen zu haben, die mir damals unerklärlich waren. Auch die degenerirten *Macroconidien*, welche auf der Milch entstehen, haben bisweilen blasse Inhaltskörper und erinnern in diesem Falle an die Cystenbildung [1]). Ich will hier nicht vorgreifen, sondern die Bedeutung der in den Cholera-Stühlen gefundenen Cysten bei Besprechung anderer Culturen hervorheben; erwähnen will ich aber noch, dass die zerfallenden Cysten (Fig. 7 *c*) in ganz ähnlicher Weise wie in den Cholera-Stühlen *Micrococcus*-Kolonieen bilden, doch sind dieselben farblos, die Zellen keimten bald und brachten *Penicillium* hervor. »*Vibrionen*« und »*Bacterien*« kamen weder bei dieser, noch bei irgend einer anderen von mir vorgenommenen Cultur vor, wohl aber sah ich häufig kleine Bruchstücke von *Leptothrix*-Ketten unter dem Einfluss der verdunstenden Flüssigkeit oder der durch Mischungen hervorgerufenen Strömungen allerlei wunderliche unwillkürliche Bewegungen machen.

Ein einziges Mal, nämlich am 7. Juni, gelang es mir, einige scheinbar ganz normale Cysten am Tragfaden zu erblicken und darunter sogar eine mit einer keimenden Spore (Fig. 8 *k*).

Unvollkommene Cystenbildungen, wie sie in Figg. 9 und 10 abgebildet sind, kamen dagegen noch mehre Tage zum Vorschein und nicht selten die ersten Anfänge der Theilung wie in Fig. 9 *a*. Was das nur einmal gesehene einer Copulation ähnliche Gebilde Figur 11 bedeutet, konnte ich nicht ermitteln. Die *Macroconidien* sah ich häufig keimen und zarte, weit schwächlichere Exemplare von *Oidium lactis* erzeugen, welche hie und da Pinsel trugen.

Schon am 7. Juni zeigten manche Keimlinge genau die Gestalt des gemeinen *Oidium lactis Fres.* und am 8. erblickte ich an solchen Exemplaren die ersten Pinsel von *Penicillium crustaceum*. Die jetzt noch hie und da vorhandenen Exemplare mit *Macroconidien* (Fig. 12) hatten ein blasses, kraftloses Ansehen. Gerade diese sind aber für die Beurtheilung der Cysten am günstigsten, denn sie zeigen auf's deutlichste, dass die *Macroconidien*-Ketten und die Cysten einen gemeinsamen Ursprung haben. Solche degenerirte Ketten (Fig. 12 *m k*) treten mit degenerirten Cysten (Fig. 12 *d c*) an einem und demselben Exemplar auf und es ist leicht durch Vergleich der verschiedenen Formen einzusehen, dass sich oft zwischen kurzen Ketten (Fig. 12 *k k*) und Cysten,

1) S. Max Schultze's Archiv f. mikr. Anat. Bd. II. 1866. Taf. V. Fig. 1. 2. 3. 6. 7.

die nur noch *Vacuolen* aber keine Inhaltskörper mehr ausbilden (Fig. 12 *d c k*), kaum ein wesentlicher Unterschied auffinden lässt.

Die Flüssigkeit reagirte von nun an bis zum Ende der Cultur schwach sauer. Am 14. Juni wurde die Cultur mit übermangansaurem Kali desinfeirt und beseitigt. Ich benutze diese Gelegenheit, um zu bemerken, dass alle bei den Culturen und Versuchen benutzten Gegenstände, selbst Objectträger, Deckgläser, Lanzetten, Nadeln u. s. w. gleich nach der Benutzung mit jenem Reagens desinficirt wurden, dass ich mir den Mund von Zeit zu Zeit mit verdünnter Karbolsäure spülte, mehrmals am Tage Rothwein oder einen Schluck starken Branntwein zu mir nahm und in der Diät sehr vorsichtig war.

Die ganze Cultur war vor ihrer Vernichtung mit fruktificirendem *Penicillium* bedeckt und von den zu *Mucor* gehörigen Vorbildungen sah ich kaum noch geringe Spuren.

Nr. 2. Aussaat auf Zuckerlösung mit gleicher Quantität einer concentrirten Lösung von weinsteinsaurem Ammoniak, am 28. Mai im Culturapparat bei 16—25° Zimmerwärme.

Bis zum 14. Juni, wo die Cultur vernichtet wurde, bildeten sich in der Flüssigkeit nur grosse Mengen von *Micrococcus*, theils bräunlich, theils farblos. Die Reaction der Flüssigkeit war bis zum Beschluss alkalisch.

Nr. 3. Aussaat auf Stärkekleister im Culturapparat am 28. Mai.

Nach 42 Stunden hatte sich an der Oberfläche ein zarter Beleg gebildet, bestehend aus zahllosen *Micrococcus*-Zellen, welche nach allen Seiten hin zierliche *Leptothrix*-Ketten entsendeten. Figur 13 zeigt eine kleine Gruppe solcher Fäden, an der man zugleich das Anschwellen der *Micrococcus*-Zellen zum *Cryptococcus* deutlich wahrnehmen kann. Der *Micrococcus* war anfangs olivenbraun, verlor aber diese Farbe schon in den ersten Tagen.

Schon am 3. Tage mehrte sich die *Cryptococcus*-Bildung, zugleich aber trat Bildung von *Arthrococcus* (*c* und *a* Fig. 14) auf. Die anfangs völlig neutrale, eher etwas alkalische Substanz war bis zum Ende der Cultur immer mehr sauer. Die *Leptothrix*-Ketten waren schon am 3. Tage sehr im Zerfallen begriffen, am 4. sah man nichts mehr davon bei Zunahme der Säurebildung. Die *Cryptococcus*- (Fig. 14 *c*) und *Arthrococcus*- (Fig. 14 *a*) Zellen brachen das Licht wie das Wasser, so dass sie erst in Glycerin deutlich sichtbar wurden.

Am 4. Tage kamen einzelne der grösseren, *Torula*-ähnlichen *Cryptococcus*-Zellen zur Keimung, genau in derselben Form wie auf dem Zuckerwasser (vgl. Fig. 6). Das Keimungsproduct war die ganz normale *Macroconidien*-Pflanze von *Mucor racemosus Fres.* An einer

ziemlich trockenen Stelle des Kleisters kamen am 5. Tage einige Keimlinge von *Macroconidien* zur Ausbildung normaler Kapselpflanzen von *Mucor racemosus Fres.* Der kleine Rasen verschwand aber schon in den nächsten Tagen wieder, natürlich in Folge des Mangels an Stickstoff. Mittlerweile zeigten sich hie und da unter dem Rasen einzelne Cysten, ganz ähnlich wie die auf dem Zuckerwasser ausgebildeten, meist aber blassgelb gefärbt, ausserdem an den nassen Stellen schlauchartige Fäden mit Wurzelzweigen; Schläuche, wie Fig. 15 einen abbildet, Bildungen, welche den Uebergang zu *Achlya* andeuten u. s. w. Aber auch diese Gebilde schwanden sehr bald bei zunehmender Gährung. Die saure Reaction der anfangs neutralen Substanz (vermuthlich Milchsäurebildung) nahm von Tag zu Tag zu. Am 14. Juni stand auf der ziemlich flüssigen Masse eine dicke Haut (*Mycoderma*) von *Arthrococcus lactis* (Fig. 14 *a*). Die Cultur wurde desinficirt und vernichtet.

Nr. 4. Aussaat auf Stärkekleister mit ¼ Gewichtstheil weinsteinsaurem Ammoniak am 28. Mai im Cultur-Apparat.

Bis zum 31. Mai bildete sich an der Oberfläche der Flüssigkeit ein dichter, zusammenhängender Beleg, welcher ganz und gar aus *Leptothrix*-Ketten und *Micrococcus*-Zellen bestand (Fig. 16). Die Reaction des Substrats war an den meisten Puncten der Oberfläche schwach sauer, an einigen vertieften Stellen jedoch, wo die Salzlösung sich mehr angehäuft hatte, neutral, ja schwach alkalisch. Die *Leptothrix*-Ketten färbten sich wie auch in der Cultur Nr. 3 durch Einwirkung von *Chlorzinkjod* blassbraun. Hie und da bildete sich aus dem *Micrococcus* sehr zarter, erst auf Zusatz von Glycerin sichtbar werdender *Cryptococcus*.

Schon am 1. Juni waren sämmtliche *Leptothrix*-Ketten wieder in ihre Glieder zerfallen und fuhren fort, *Micrococcus* auszubilden. Vom 1. bis zum 3. Juni entwickelte sich an einer vertieften und in Folge dessen mit angesammeltem Ammoniaksalz versehenen, alkalisch reagirenden Stelle ein kleiner brauner Fleck. Bei Untersuchung desselben zeigte sich, dass hier eine *Ustilagineen*-Form wucherte mit einem äusserst zerbrechlichen *Mycelium* und cystenartigen Früchten. Fast nie gelang es im Centrum des braunen Flecks grössere Stücke des *Myceliums* herauszupräpariren. Dasselbe zerbrach bei dem Versuch dazu in zahlreiche Fragmente (Figg. 15, 19, 22). Diese waren rothbraun bis schwarzbraun gefärbt. Verhältnissmässig selten waren die Cysten noch mit ihrem Tragfaden verbunden wie in Figg. 19, 23, weit häufiger sah ich sie zwischen den Bruchstücken des *Myceliums* umherliegen (Figg. 17, 18, 20 *a*—*e*). Sie hatten goldgelbe (Fig. 17) bis dunkelbraune Farbe. Die verschiedenen Stadien in Figur 20 *a*—*c* deuten auf

die Entstehungsweise der in ihnen enthaltenen Sporen. Oft ist die Cystenwand sehr deutlich (Fig. 20 *c*), zuletzt aber quellen die Sporen gewissermassen aus derselben heraus (Figg. 20 *d*, 17, 18, 19) und sie erhalten ein traubiges Ansehen.

Es war am Rande des braunen Flecks am leichtesten, über die Natur der Cysten in's Klare zu kommen, denn obgleich sie hier schon mehr oder weniger degenerirten, liess sich doch ihre Entstehung und Anheftungsweise daselbst am besten beobachten.

Schon solche Gebilde wie Fig. 23 deuteten auf einen Zusammenhang zwischen den Cysten mit der *Mucor*-Pflanze, denn es finden sich daselbst junge Cysten (*c*) und *Macroconidien* (*m*) an einem Faden vereinigt. Deutlicher zeigten das Exemplare, an denen wie in Fig. 27 unverkennbare Cysten (*c*) mit ähnlichen aber degenerirten Gebilden (*d c*) und mit *Mucor*-Kapseln (*m c*) an einer Hyphe vereinigt waren. Aufmerksam machen muss ich auch darauf, dass oft genug die Cysten tragenden Exemplare an den nassen Stellen die Form wurzelnder Fäden hatten (Fig. 26), wie sie ganz ähnlich bei *Achlya* und bei *Mucor*, welcher auf nassen Boden geräth, vorkommen. Je mehr ich aber nach dem Centrum des braunen Flecks vorrückte, desto weniger war von dem Bau des *Mucor* wahrzunehmen. Die Fäden hatten hier die in Fig. 25 abgebildete Gestalt, sie trugen zahlreiche Cysten (*c*), junge (*i c*) und ausgebildete und gar keine andere Fruchtform. Abgeworfene Cysten lagen hie und da zwischen den Fäden (Fig. 24).

In den ersten Tagen bildete sich noch ein zweiter brauner Fleck an der Oberfläche und ein dritter einen Zoll unter der Oberfläche des Kleisters. Alle drei Flecke zeigten dieselben Formenelemente. Die Oberfläche bedeckte sich rings um die Flecke auf dem deutlich sauer reagirenden Boden mit einer kräftigen Vegetation von *Mucor racemosus Fres.*

Vom 5. Juni an machten die radial verbreiteten Flecke keine Fortschritte mehr; alkalische Reaction des Bodens liess sich nirgends mehr nachweisen; die Cystensporen keimten und braehten eine höehst seltsame Schimmelform hervor, die ich für degenerirende *Tilletia* erkannte. Man findet diese Bildung nicht selten auf einem der *Tilletia* ungünstigen, namentlieh auf zu nassem Boden, nach Aussaat dieses Pilzes. Hie und da kamen auch einzelne *Tilletia*-Sporen (Fig. 30 *t*) wirklich zur Ausbildung. Die meisten Sporen (*Conidien*) fallen aber, einzeln am Ende glänzender Fadenzweige ausgebildet (Fig. 30 *s p*), ab, ohne ein gitterförmiges Epispor zu bilden. Sie keimten sofort und ihr Keimungsproduct war *Penicillium* in normaler, sehr kräftiger Gestalt. Die erwähnte Conidienpflanze zeigte sehr bald die Verzweigung des *Penicillium*

und die *Conidien* traten in kleinen Ketten auf, wie die Präparate sehr schön zeigen.

Dass jene *Conidien*-Pflanze, also auch das *Penicillium*, aus den Cysten hervorgehen, dafür habe ich ausser der Beobachtung der Keimung zwei Beweise. Erstlich sprossten während des völligen Zugrundegehens der braunen Cystenvegetation aus den Bruchstücken der *Mycel*-Fäden (Fig. 29) Zweige mit Endconidien hervor; zweitens sah ich einmal direct aus einer Cyste den Keimfaden einer Spore mit zwei *Conidien* hervorragen (Fig. 28). Vom 7. Juni an wurde das Substrat immer mehr sauer und flüssig, es bildete sich massenhaft *Arthrococcus*, die Mucorvegetation ging völlig zu Grunde, nachdem die Cysten und die von ihnen gebildeten Hefekolonieen schon früher verschwunden waren und endlich verschwand auch das *Penicillium*. Am 14. Juni wurde die stark sauer riechende und reagirende Cultur desinficirt und vernichtet.

Ich kann die Besprechung dieser Cultur nicht abschliessen, ohne auf das höchst merkwürdige Vorkommniss der Cysten in genetischer Verbindung mit *Mucor — Tilletia — Penicillium* hinzuweisen. Ich habe *Penicillium* und *Mucor* monatelang auf weinsteinsaurem Ammoniak, auf Fleisch, Kleister mit Ammoniaksalz und anderen stickstoffhaltigen Substanzen cultivirt, ohne jemals derartige Cysten zu erzielen. Es muss also die Ausbildung der Cysten im Darm wie überhaupt in der Natur von ganz besonderen Umständen abhängig sein, deren Aufdeckung für die Cholera-Frage Vorbedingung ist.

Soviel geht aus den Culturen Nr. 1—4 schon hervor, dass die Cystenbildung an den Stickstoffgehalt des Bodens gebunden ist und dass der Boden feste oder breiartige Bestandtheile enthalten muss, denn in Nr. 1 und 2 kamen die Cysten gar nicht zu normaler Entwickelung, in Nr. 3 nur anfangs in unbedeutenden Spuren, in Nr. 4 nur so lange einzelne Stellen höheren Stickstoffgehalt und schwach alkalische Reaction zeigten und nur an diesen Stellen.

Aussaat Nr. 5 auf gekochtem Rindfleisch, in etwas Zuckerwasser liegend, bei 16—25° R. im Culturapparat am 29. Mai.

Binnen 48 Stunden bildete sich auf der Oberfläche der Flüssigkeit eine dichte Decke bräunlicher *Micrococcus*-Zellen und *Leptothrix*-Ketten.

Am 2. Juni hatte sich schon ganz in derselben Form der Keimung wie ich sie oben beschrieben (Fig. 6) ganz normales *Oidium lactis Fres.* ausgebildet[1]). Der *Micrococcus* schwillt zu kugeligen Zellen an, welche keimen. An den Enden des Keimfadens und seiner Zweige werden in

1) Vergl. u. a. meine »Gährungserscheinungen«. Fig. 4, meine »Parasiten«. Taf. I. Figg. 21. 22. 38.

einfacher Kette *Oidium*-Conidien abgeschnürt. Alle bis dahin vorhandenen Elemente des Pilzes wurden durch übermangansaures Kali gebräunt, aber in ihrer Gestalt und Structur nicht sichtbar verändert.

Schon am 2. Juni verschwand das *Oidium* vollständig, die Reaction des Substrats war stark alkalisch, dasselbe faulte unter Entwickelung eines höchst unangenehmen Geruchs. Ueberall fanden sich Massen von gelbbraunem *Micrococcus*. Im Laufe der folgenden Tage bildete sich die *Ustilagineen*-Pflanze mit zahlreichen Cysten aus. Das *Mycelium* derselben war so zerbrechlich, dass man kaum kleine Fragmente davon erhalten konnte, aber die Cysten lagen überall und bildeten Hefe-Kolonieen genau in derselben Form wie in den Cholera-Stühlen. Das *Mycelium* war blass, ebenso die Cysten (Fig. 31 *a—c*). Die Entwickelung des *Micrococcus* aus den Cysten ist genau dieselbe wie in den Cholera-Stühlen. Die Sporen quellen stark auf, ihre Wand wird gelatinös und verschwindet zuletzt (Fig. 31 *d—g*), wodurch die Kerne als *Micrococcus* frei werden. Sie sind unbeweglich wie bei allen *Ustilagineen*-Früchten und ich begreife nicht, wie man bei Untersuchung der Cholera-Dejectionen von »Schwärmern« schwärmen konnte.

Die Fleischfasern werden von dem *Micrococcus* in derselben Weise belagert und zerstört wie das Darmepithel. Sie lösen sich in ihre sehr zerbrechlich werdenden Elemente auf, zuletzt sogar zergehen sie zu einem klaren, dem frischen Hühnereiweiss ganz ähnlichen Schleim. Ganze Haufen zerfallender Cysten wie in den Cholera-Stühlen (Figur 2) sind etwas ganz Gewöhnliches. Am 15. Juni wurde die von Früchten wimmelnde, stark alkalische, sehr übelriechende breiartige Cultur beseitigt.

Das Resultat ist also auch hier wieder eine mächtige Entwickelung der Cysten und der aus ihnen hervorgehenden Hefe-Kolonieen bei hohem Stickstoffgehalt und alkalischer Reaction des Substrats.

Aussaat Nr. 6 auf Stärkekleister im Isolir-Apparat[1]) am 29. Mai. Es wurde ein Kolben mit luftdicht aufgesetztem, senkrecht herabgebogenem Rohr versehen, nachdem er ausgekocht und mit Spiritus gereinigt war. Der Kleister wurde darin gekocht, das Rohr aufgesetzt und nach genügender Abkühlung die Flüssigkeit eingetragen, darauf der Kolben rasch luftdicht geschlossen.

Der angewendete Kleister war ziemlich nass, es trat daher von vornherein Gährung ein ohne aërophytische Pilzformen. Bis zum 11. Juni sah man allmählich eine schwache Bräunung des Substrats eintreten. Dann war bis zum 15. äusserlich wenig Veränderung wahrnehmbar.

---

1) Vergl. meine »Gährungserscheinungen«. p. 12. Fig. 1.

Am 15. wurde der Kolben dicht über der Oberfläche des Substrats durchschnitten, um den Inhalt besser beobachten zu können. An den gelbbraunen Stellen fand sich eine faserige Pilzvegetation, bestehend aus schlauchartigen Fäden ohne Scheidewände, wie sie stets den Uebergang des *Mucor* in *Achlya* andeuten. Die schlauchförmigen Zellen waren dicht erfüllt mit grossen goldgelben Inhaltskörpern. Die nämlichen Fäden trugen an einzelnen Zweigen *Macroconidien*, während andere sich, ohne Scheidewände zu bilden, wurzelartig verzweigten. *Macroconidien* in allen Stadien der Keimung bis zu den mit grossen Kernen angefüllten, den *Achlya-Sporangien* oft sehr ähnlichen Fäden, waren überall. Mehr im Innern des Substrats befanden sich zahlreiche farblose *Mycel*-Fäden, hie und da mit einzelnen, runden, blassen *Conidien*, d. h. mit nicht zur normalen Entwickelung gekommenen *Tilletia*-Sporen versehen. Der Kleister war keineswegs übermässig stark zersetzt. Eine Aussaat von *Penicillium* würde diesen Grad der Zersetzung in kürzerer Zeit hervorgerufen haben. Er war von *Micrococcus* und zartem *Cryptococcus* durchdrungen. Der *Micrococcus* trat nirgends in Kolonieen auf und die Cysten fehlten. Die *Micrococcus*-Zellen waren überall völlig farblos. Die Reaction des Substrats war schwach sauer. *Arthrococcus* hatte sich nur sehr wenig ausgebildet.

Nach möglichst sorgfältiger Desinfection wurde der Kolben mit seinem Inhalt in brennbare Materien eingehüllt und im Ofen dem Einfluss eines Holzfeuers ausgesetzt.

Diese Cultur lehrt wiederum, dass bei geringem Stickstoffgehalt des Substrats weder die Cysten noch die Kolonieen-Hefe regenerirt werden.

Aussaat Nr. 7 in Zuckerlösung mit etwas weinsteinsaurem Ammoniak im Isolirapparat (Kolben mit Aufsatzrohr) am 29. Mai.

Es bildete sich in der Flüssigkeit eine schwache Trübung, welche erst vom 10. Juni an stärker wurde. Am 11. zeigte sich an der Oberfläche ein weisslicher Filz, am 13. hatte derselbe hie und da eine grünliche Farbe angenommen, am 15. öffnete ich die Flasche und fand die ganze Oberfläche sowie den Stöpsel mit fruktificirenden *Penicillium*-Pflanzen bedeckt. Im Innern der Flüssigkeit war der Befund genau derselbe wie bei der Cultur Nr. 1, nämlich unter den *Penicillium*-Rasen einzelne Pflanzen mit *Macroconidien*, einzelne degenerirte Cysten an denselben und die ganze Flüssigkeit mit *Micrococcus* erfüllt, in allen Stadien des Ueberganges zum *Cryptococcus* und hie und da zum *Arthrococcus*. Die Flüssigkeit war deutlich sauer und entwickelte einen unangenehmen Geruch. Am 15. Juni wurde gleich nach der Untersuchung die Cultur beseitigt. Der Kolben wurde behandelt wie bei der Cultur Nr. 6.

Aussaat Nr. 8 im grossen Isolirapparat[1]) auf steifem Stärkekleister, mit weinsteinsaurem Ammoniak in Lösung gekocht, am 28. Mai bei 12—20° R. Zur Aufnahme des Substrats und der Aussaat wurde eine Gasentbindungsflasche genommen. Die Luft wurde 2—3 Mal täglich durch Auspumpen erneut. Der Apparat schloss vollkommen.

Nach Verlauf einiger Tage sah man an der Oberfläche des Kleisters filzige Pilzmycelien, ähnlich den Vorbildungen von *Mucor*.

Vom 8. Juni an trat an der ganzen Oberfläche starke Bräunung ein, die Filzmassen hatten sich verringert.

Am 13. Juni wurde der Apparat auseinander genommen, die Entbindungsflasche zerschnitten und ihr Inhalt untersucht. Es hatte sich ganz kurze Zeit an einigen Stellen der Oberfläche eine Mucor-Vegetation gezeigt. Zur Zeit der Untersuchung waren von dieser nur noch mikroskopische Ueberreste nachweisbar, dagegen zeigte sich an einigen trockneren Stellen beginnende *Penicillium*-Bildung. Die Cysten-Pflanze fand sich an den gelbbraunen Stellen in grösster Vollkommenheit (Fig. 33). Die Pflanzen bestanden eigentlich aus lauter Cysten und es kann schon aus diesem Grunde bei sehr starker Entwickelung derselben von einem *Mycelium* nicht die Rede sein, wodurch sich sehr einfach die Thatsache erklärt, dass man in den Cholera-Entleerungen nur Cysten und Hefe, aber kein *Mycelium* findet. Die Kolonieen-Hefe fehlte in der Cultur nicht ganz, doch war ihre Ausbildung sehr unbedeutend. Dagegen fand ich unzählige Cysten und aus Cysten entstandene Sporenhaufen in Keimung begriffen. Die Keimung (Fig. 32) war meist ganz so wie bei *Urocystis occulta Rab.*, d. h. die Keimschläuche durchbrachen nach allen Seiten hin die Cystenwand. Hie und da sah man jedoch auch zerfallene Cysten, deren einzelne Sporen Keimschläuche getrieben hatten. *Urocystis occulta Rab.* verhält sich genau analog. Während auf dem Getreide die Cysten im Innern des Gewebes nach allen Seiten Keimschläuche treiben, welche die Cystenwand durchbrechen, zerfallen die Cysten in einer breiartigen oder flüssigen Substanz vor der Keimung. Ebenso ist es bei *Urocystis intestinalis m.* im Darm *Diphtheritis*-Kranker. Neuere Culturversuche mit diesen Cysten haben mir gezeigt, dass die bei *Diphtheritis* auftretende Art von *Urocystis occulta Rab.* nicht specifisch verschieden ist.

Die aus den Cysten der 8. Cultur hervortretenden Keimschläuche trugen hie und da Pinsel von *Penicillium*. Das Substrat reagirte schwach sauer, wenigstens an den fruchtbaren Stellen; es hatte sich viel *Cryptococcus* und in ziemlicher Menge *Arthrococcus*, oft mit Spross-

1) Gährungserscheinungen. p. 14. Fig. 2.

bildungen in Gestalt der *Torula accti* entwickelt. Lange vor dem Oeffnen des Glases hatte ich starke Blasenentwickelung bemerkt.

Diese Cultur ist vielleicht die interessanteste und belehrendste von allen. Sie zeigt, dass die *Urocystis*-Frucht in den Cholera-Stühlen sich auf einem stärkehaltigen, aber nicht ganz stickstoffarmen Boden regeneriren kann, dass sie indessen keine Kolonieen-Hefe bildet, wenn die Substanz steif breiartig ist. Ausserdem gehört zur Ausbildung des Kolonieen-*Micrococcus*, wie die übrigen Culturen zeigten, ein noch höherer Stickstoffgehalt.

Die erwähnte *Urocystis*-Frucht zeigt nicht nur in ihrer Entstehungsweise und Keimung, sondern mehr noch in der Lebensweise und im Generationswechsel die allergrösste Analogie mit unserer *Urocystis occulta Rab.* Diese einheimische Pflanze besitzt eine *Acrosporen*-Frucht, nämlich *Gonatobotrys simplex* mit einer *Forma pusilla*, welche von *Cephalothecium roseum* ununterscheidbar ist, ferner eine *Thecasporen*-Pflanze, nämlich ein *Sporidesmio-Stemphylium*, dessen Früchte sich aus Spaltöffnungen, z. B. in der Getreideblüthe, über die Oberfläche erheben, ferner eine anaërophytische Form, nämlich *Ustilago*-Ketten [1], welche hie und da *Urocystis*-Früchte zur Ausbildung bringen. Auch eine geschlechtlich entstandene Frucht glaube ich gefunden zu haben, doch sind meine desfallsigen Beobachtungen unvollständig. Vergleichen wir diese Generationen von *Urocystis occulta* mit denen des Cholora-Pilzes, so ist die Analogie überraschend. Die Cysten entsprechen der *Urocystis*, die *Tilletia* der *Ustilago*-artigen Vorbildung, der *Mucor* dem *Stemphylium* und die *Achlya* wahrscheinlich einer durch Geschlechtsact entstehenden Fruchtform.

Nun kommt noch hinzu, dass *Urocystis occulta* unter ähnlichen Umständen eine ganz ähnliche Kolonieen-Hefe zur Ausbildung bringt wie die Cysten der Cholera-Stühle.

Die *Urocystis* kommt bekanntlich nur am Halm, und, wie ich gezeigt habe, in der Blüthe, namentlich an den Staubbeuteln des Roggens und Weizens vor. Sie lebt also in einem Gewebe, welches gleichzeitig an Kohlenhydraten und an einem stickstoffreichen Plasma genügende Vorräthe aufgespeichert hat und nicht, wie *Tilletia*, verschiedene Arten von *Ustilago* etc. in einem verhältnissmässig stärkereichen und stickstoffarmen Gewebe.

---

1) Die *Ustilago*-Form erinnert an *Ustilago carbo Tul.*, doch ist die Pflanze weit unregelmässiger, die Glieder ungleich gross und bald heller, bald dunkler, weit häufiger in mehren Richtungen getheilt etc.

Sucht man also nach dem natürlichen Vorkommen dieser Cysten, so wird man sein Augenmerk auf ähnliche Localitäten an Pflanzen zu richten haben, denn die Cysten stellen eine anaërophytische Form (*Ustilaginea*) dar, welche am besten auf einem Gemenge von Kohlenhydrat und Proteinsubstanzen oder Ammoniaksalz in breiartiger Form ihre Früchte zur Ausbildung bringt.

Aussaat Nr. 9 im Culturapparat auf steifem Stärkekleister am 31. Mai.

Es traten nur sehr unbedeutende *Mycelium*- und Fruchtbildungen auf, welche bald wieder schwanden. Die Hefebildungen waren wie bei Nr. 3. Vom 10. Juni an zeigte sich an der Oberfläche Vegetation von *Penicillium*. Am 15. war die ganze Oberfläche mit fructificirendem *Penicillium* bedeckt. Die erwähnten Pilzbildungen bestanden in Pflanzen mit *Macroconidien* und Cysten, sowie im Innern des Kleisters aus *Tilletia*-Pflanzen, deren Sporen jedoch während der Dauer nicht zur Reife gelangten. Am 15. Juni wurde die saure Cultur desinficirt und beseitigt.

Aussaat Nr. 10 auf Fleisch mit etwas Zuckerwasser im Culturapparat am 2. Juni. Gutes Rindfleisch wurde stark gekocht, bevor es in den Apparat gebracht wurde.

Das Resultat war fast genau dem von Nr. 5 gleich. In den ersten Tagen bildete sich an der Oberfläche *Oidium lactis Fres.*, darunter vollkommene Cysten-Pflanzen. Das *Oidium* verschwand bald wieder, das Fleisch löste sich vollständig in Brei auf unter massenhafter Ausbildung der Cysten und der aus ihnen hervorgehenden *Micrococcus*-Kolonieen.

Am 15. Juni wurde die stark alkalisch reagirende, sehr übelriechende Cultur beseitigt.

Aussaat Nr. 11 auf steifem Kleister im Isolir-Apparat (Kolben mit Aufsatzrohr) am 2. Juni bei 16—20° R.

In Folge sehr reichlicher Aussaat, also reichlicherer Stickstoffzufuhr, kamen in dieser Cultur mehr als bei Nr. 3 und 6 Cysten zur Ausbildung, und zwar bis in's Innere des Kleisters hinein. Mehre Tage nach der Aussaat erschien der Kleister stellenweise gelbbraun gefärbt, und an Stellen, wo der Kleister gerissen war, sah man diese gelbe Färbung nach innen vordringen. Am 15. Juni wurde der Kolben zerschnitten. Der Inhalt roch unangenehm säuerlich, reagirte schwach sauer, zeigte ausser grossen Mengen von stabförmigem *Arthrococcus* an den gelbbraunen Stellen bräunlichen *Micrococcus* und Kolonieen davon. Hier fanden sich Cysten und fast reife Sporen der *Tilletia* in grosser Menge. Die *Arthrococcus*-Zellen geriethen durch Strömungen in der Flüssigkeit des Objectträgers in so eigenthümliche Bewegungen,

dass man sie bei oberflächlicher Betrachtung für *Vibrionen* (*Bacteridien*) hätte halten können, und vielleicht sind es solche Gebilde gewesen, welche Klob für *Bacterien* angesehen hat.

Aussaat Nr. 12 auf gekochtes Rindfleisch, welches an einem Faden in Wasser hängend, so angebracht wurde, dass der grösste Theil desselben über die Wasserfläche emporragte. Ausgeführt im Culturapparat am 2. Juni.

Es bildete sich bis zum 5. ausser massenhaftem *Micrococcus Oidium lactis Fres.* und *Mucor* mit einzelnen Kapseln, besonders am Faden, welcher das Fleisch trug. Cysten wurden in Menge hervorgebracht, und unter dem Einfluss ihres *Micrococcus* löste sich das Fleisch in einen Brei von üblem Geruch auf. Schon am 5. zeigten sich hie und da vollkommen durchsichtige, fadenziehende, eiweissartige Auflösungsproducte.

Am 15. war vom Fleisch kaum noch etwas nachweisbar; es hatte sich eine trübe, weissliche, stark alkalische, von *Micrococcus* wimmelnde Flüssigkeit gebildet. Die Cultur wurde nun beseitigt.

Aussaat Nr. 13 auf Kleister und weinsteinsaurem Ammoniak im Culturapparat bei 25—35° R. auf dem Wasserbade am 4. Juni.

Die Temperatur wurde meist auch Nachts auf etwa 30° R. gehalten, einige Nächte jedoch sank sie bis auf 20° R. herab. Schon nach 48 Stunden zeigte die Oberfläche braune Flecken. Daselbst fanden sich dunkelbraune *Mycelium*-Bruchstücke wie bei Nr. 4, hie und da zeigte sich *Mucor* mit beginnender Fructification und mit *Macroconidien*. Am dritten Tage befand sich der Kleister in starker Gährung mit Gasentwickelung. Er war sehr dünne, fast flüssig geworden, reagirte, wenigstens an der Oberfläche, sauer, und es entwickelte sich aus dem massenhaft vorhandenen *Micrococcus* rasch stabförmiger *Arthrococcus*.

Ich setzte Hühnereiweiss und etwas Fleisch hinzu. Am folgenden Tage reagirte der Kleister noch sauer an den Stellen, wo wenig oder kein Eiweiss nachweisbar war, in den Vertiefungen dagegen schwach alkalisch.

Die alkalische Reaction nahm von Tag zu Tag überhand und die Gasentwickelung minderte sich. Der *Arthrococcus* verschwand. Am 15. Juli war das ganze Substrat gelb gefärbt, das Fleisch zum Theil ganz gelöst, überall zeigten sich Cysten und *Micrococcus*, einzeln und in Colonieen, von braungelber Farbe. Der Geruch war verhältnissmässig sehr schwach.

Die Zersetzung scheint mithin bei hoher Temperatur eine etwas andere zu sein. Sie ist energischer und es bilden sich massenhafter und rascher *Micrococcus* und Cysten aus. Die Zersetzung des Fleisches ist

mit weniger üblem Geruch verbunden. Ich muss bemerken, dass bei allen Culturen in Temperaturen über 20° R. grosse Aufmerksamkeit auf die Feuchtigkeitsverhältnisse verwendet werden musste. Es musste beständig etwas destillirtes Wasser nachgefüllt werden, da die Zersetzung beim Austrocknen des Substrats sich sehr verlangsamte. Die Cultur wurde bei derselben Temperatur fortgesetzt, um für die mittlerweile eingeleiteten Fütterungen Material zu behalten.

2. Culturen mit dem Material von Elberfeld.

a. Flasche mit Stuhl und Erbrochenem. Reaction schwach sauer.

Aussaat Nr. 14. Im Culturapparat auf eine geschälte und durchschnittene Citrone am 5. Juni. Bis zum 10. Juni bedeckte sich die Citrone mit einer ganz reinen Vegetation von fructificirendem *Penicillium crustaceum Fr.* Die Pinselpflanze ging aus Keimlingen von *Arthrococcus*-Zellen hervor. Am 11. wurde die Cultur desinficirt und beseitigt.

Aussaat Nr. 15 auf Kleister mit etwas Hühnereiweiss, ziemlich flüssig, am 5. Juni im Culturapparat bei 16—20° R.

Es bildeten sich binnen zweien Tagen einzelne Cysten, wenig *Mycelium*. In den folgenden Tagen war von beiden nichts mehr nachweisbar. Die flüssiger werdende Masse gerieth in Gährung. Die Reaction des Substrats wurde stark sauer und die Oberfläche bedeckte sich mit einer *Mycoderma* von *Arthrococcus*. Am 15. Juni wurde die Cultur desinficirt und vernichtet.

Aussaat Nr. 16 auf Fleisch mit etwas Zuckerwasser im Culturapparat bei 16—20° R. am 5. Juni.

Am 7. zeigten sich Cysten mit sehr wenig *Mycelium*. *Micrococcus*-Bildung und Zersetzung des Fleisches gingen weit langsamer von Statten als bei den Aussaaten mit Berliner Material. Gegen das Ende der Cultur bildete sich massenhaft ächte *Vibrio lineola*, die vermuthlich zufällig im Erbrochenen anwesend war. Am 15. Juni wurde die Cultur desinficirt und beseitigt. Sie war natürlich stark alkalisch und übelriechend.

Aussaat Nr. 17 im Culturapparat auf Kleister, bei 16—20° R. am 5. Juni.

Der Kleister wurde bald nass und sauer, an seiner Oberfläche entwickelte sich bis zum 10. eine *Mycoderma*, bestehend aus *Oidium lactis* und *Arthrococcus*. Noch am 15. hie und da das *Oidium*, der *Arthro-*

coccus überall, die Reaction sauer. Die Cultur desinficirt und beseitigt.

b. Flasche mit Stuhl. Reaction stark alkalisch.

Aussaat Nr. 18 im Isolirapparat (Kolben) auf gekochter Milch, am 6. Juni, bei 16—20° R.

In 12 Stunden war die Milch geronnen. Acussere Veränderung zeigte sich nicht bis zum 15., ausgenommen ein zarter, matter Anflug der Oberfläche, welcher auf einen Ueberzug von *Oidium lactis* deutete.

Bei der Oeffnung des Kolbens am 16. Juni zeigte die Oberfläche einen zarten Beleg, welcher aber gar keine Mycelbildungen enthielt, sondern lediglich aus *Arthrococcus lactis* bestand. Die *Arthrococcus*-Zellen sind den abgeworfenen Gliedern des *Oidium* ähnlich, aber kleiner und mehr stabförmig. Obgleich sie eines ganz anderen Ursprungs sind als diese, da sie aus *Micrococcus* unmittelbar hervorgehen und zu den ächten Hefebildungen gehören, während das *Oidium* schon ein Keimungsproduct von *Arthrococcus* ist, so sind beide doch bisher nie unterschieden worden. Der verkäste Theil der Milch war ganz dicht erfüllt mit bräunlichem *Micrococcus*[1]). Mycelbildungen sah ich nur stellenweise sehr unbedeutende. Die Substanz entwickelte einen bitterlichen Käsegeruch und reagirte stark sauer an den flüssigen, molkigen Stellen. An demselben Tage wurde der Kolben und sein Inhalt wie die rüheren desinficirt und vernichtet.

Aussaat Nr. 19 im Isolirkolben auf Köstritzer Bier am 6. Juni bei 16—20° R.

Das Bier wurde natürlich vorher stark gekocht.

Aeusserlich zeigte sich keine Veränderung ausser stetiger Blasenbildung. Am 16. Juni wurde der Kolben geöffnet. Das Bier enthielt nicht eine Spur von Pilzelementen ausser grossen Mengen von schr schönem *Cryptococcus*, welcher im Begriff stand, in *Arthrococcus* überzugehen, d. h. langestreckte, querzerfallende Sprossen zu treiben. Das Bier reagirte schwach sauer. Es ist bekanntlich sehr reich an Zucker und Malz, daher die lange Nachgährung infolge des zugeführten Stickstoffs. Am selben Tage wurde dic Cultur desinficirt und beseitigt.

Aussat Nr. 20 im Culturapparat auf eine geschälte und durchschnittene Citrone am 6. Juni bei 16—20° R.

Das Resultat war genau das nämliche wie bei der analogen Cultur Nr. 14. Am 16. Juni wurde die Cultur vernichtet.

---

1) Der Käse ist stets dicht mit *Micrococcus* erfüllt.

Aussaat Nr. 21 im Culturapparat auf Zuckerwasser mit Eiweiss bei 16—20° R. am 6. Juni.

Diese Cultur gehört in ihren Resultaten zu den wichtigsten von allen. Es bildete sich im Zuckerwasser *Cryptococcus*, im Eiweiss sah man schon in den ersten Tagen weisse Flocken entstehen, die sich allmählich vergrösserten. Sie zeigten eine Vegetation, die mich beim ersten Anblick im höchsten Grade überraschte, nämlich die Pflanzen, welche ich früher aus *Penicillium* auf gekochter Milch erzog, in höchster Vollkommenheit[1]). An kurzen, gedrungenen, büscheligen Pinseln entwickelten sich endständig und gabelständig grosse Mengen von Cysten. Während auf der Milch jene Cysten leer und unfruchtbar blieben, hatten sie hier einen grossen Ballen von Sporen als Inhalt. Ich habe in jener Arbeit über die *Leptothrix*-Schwärmer schon die Cysten für degenerirte *Macroconidien* erkannt und erklärt, dass ihnen aber eine weitere Bedeutung zukommt, konnte ich damals nicht wissen. Dass die Cysten mit den *Macroconidien* einen und denselben Ursprung haben, ist hier im Eiweiss ungemein deutlich nachweisbar. Leider konnte ich auf der dieser Schrift beigegebenen Tafel keine Figuren mehr anbringen, doch habe ich eine möglichst grosse Anzahl von Präparaten zur Vertheilung angefertigt. Uebrigens giebt die Figur 14 der so eben angeführten Arbeit eine sehr deutliche Vorstellung von diesem Pilz, wenn man die Cysten mit Sporen erfüllt denkt.

Die Cysten und ihre Sporen bleiben farblos und befinden sich auch ohne Zweifel im Zustande der Degeneration. Die keimenden Sporen brachten schwächliche *Conidien*-Pflanzen hervor. Weitere Pilzbildungen fanden nicht statt, nur entwickelte sich im Innern des Eiweisses massenhaft *Micrococcus* von bräunlicher Farbe bei alkalischer Reaction an den betreffenden Stellen. Am 16. Juni wurde die Cultur desinficirt und beseitigt.

Aussaat Nr. 22 auf Zuckerwasser im Culturapparat am 6. Juni bei 16—20° R.

Das Resultat war genau dasselbe wie bei der Cultur Nr. 1. Am 16. Juni wurde die Cultur desinficirt und beseitigt.

---

1) Vgl. Max Schultze's Archiv, Bd. II, pag. 61 ff., Taf. V, Figg. 6—16.

III. Morphologische Resultate der Culturen.

Fassen wir das Gesammtresultat aller bisherigen Culturen kurz zusammen, so muss zunächst hervorgehoben werden, dass in allen Culturen nur Pilzgenerationen einer und derselben Species auftraten. Dieses Resultat ist höchst wichtig für die Beurtheilung der Reinheit und Reinerhaltung der Culturen. Ich hatte aber vorsichtshalber einen Controlversuch (Nr. 42) zur Prüfung der Reinheit der Apparate und des Kleisters eingeleitet. Am 5. Juni wurde in einem Culturapparate frischer Stärkekleister bei gewöhnlicher Zimmertemperatur hingestellt. Am 16. Juni erschien der Kleister noch ganz frisch, ohne jegliche Spur von Pilzvegetation. Wäre auch nur ein Minimum von lebenden Sporen oder *Micrococcus*-Zellen von *Penicillium* im Kleister vorhanden gewesen oder später in den Apparat gedrungen, so würde sich natürlich auf dem steifen Brei in 2—3 Tagen eine Decke von *Penicillium* gebildet haben. Es bewies also dieser Controlversuch, dass alle *Micrococcus*-Zellen, die im Kleister wohl nie ganz fehlen, durch das anhaltende Kochen getödtet waren. Und was für ein Pilz ist es, der sich als Resultat der Culturen herausstellte? Diejenige Species, welche die Generationen: *Penicillium* (*crustaceum*), *Mucor* (*racemosus*), *Tilletia* und *Achlya* umfasst. In den Reiswasserstühlen fand sich aber keine von diesen vier Generationen, sondern eine fünfte, welche die Systematiker zur Gattung *Urocystis* stellen würden.

Diese Fruchtform ist noch niemals von irgend einem Forscher in der Natur gefunden worden, und doch kann der menschliche Darm unmöglich ihr einziger, gewissermassen ihr normaler Boden sein, denn wenn es so wäre, so müsste man annehmen, dass die Cholera auf der Erde nie ausstürbe und dass mit dem Aussterben der Cholera der Pilz von der Erde verschwände. Es wird also zuverlässig diese Fruchtform noch anderswo in der Natur vorkommen, und dieses Vorkommniss hat man, wenn der Pilz wirklich das Contagium darstellt, als den Bildungsheerd der Cholera anzusehen. Es liegt auf der Hand, dass jenes Vorkommen der *Urocystis*-Form an ganz besondere Bedingungen geknüpft sein muss. Um die ganze Frage nach dem Cholera-Contagium der Lösung näher zu bringen, musste man diese Bedingungen der Cystenvegetation zunächst einer gründlichen experimentellen Untersuchung unterziehen. Aber wie sollte man bei dieser scheinbar so räthselhaften Sache verfahren. Da mir niemals, ausser jenem Fall bei der Milch, den ich in Schultze's Archiv beschrieben, etwas den Cysten Aehnliches in meinen unzähligen Culturen mit *Penicillium* und *Mucor*

vorgekommen war, so musste ich annehmen, dass die Cysten-Form in Deutschland nicht autochthon ist. Die Cholera wandert aus Indien ein. Ist die Cystenbildung die Ursache der Cholera, so muss auch sie einwandern. Sie kann aber auch einwandern, wenn sie bloss Folge der Cholera ist, wenn sie bloss als Begleiter, auf dem durch die Cholera zerstörten Darm einen günstigen Boden findend, auftritt.

Hierin lag der einzige Anhaltspunct für die experimentelle Erörterung der Frage nach den Bedingungen der Cystenvegetation. Ich musste mich fragen, ob nicht die hypothetisch asiatische, bezüglich indische Fruchtform nur unter dem Einfluss des indischen Klima's zur Entwickelung gelange. Nun mussten aber die in Indien gegebenen Bedingungen auch im Darm vorhanden sein. Welche klimatische Bedingung hat aber der Darm mit Indien gemeinsam? Man kann dabei nur an die Temperatur denken, denn die Feuchtigkeitsverhältnisse, die möglicherweise dabei eine Rolle spielen konnten, waren in meinen früheren Culturen nach allen Seiten hin berücksichtigt. Der Darm hat eine constante Wärme, welche die Mitteltemperatur unserer Klimate bedeutend übersteigt und von der Mitteltemperatur Indiens nicht sehr abweicht. Ist daher der Pilz aus Asien eingewandert, so findet er vielleicht gerade im Darm die ihm zusagende Temperatur. Ausserhalb des Darms findet er sie im Winter gar nicht, überhaupt nur in den wärmeren Sommermonaten annähernd, daher kann er das ganze Jahr hindurch von Menschen zu Menschen wandern, aber nur im Sommer in den Kloaken und im Erdboden sich vermehren.

Stellt sich also durch die im Folgenden mitzutheilenden Culturen heraus, dass der Pilz nur bei hoher Temperatur Cysten bildet, so kennen wir drei Bedingungen dieser Fructification, nämlich: 1) hohe Temperatur, 2) hohen Stickstoffgehalt bei nicht ganz fehlenden Kohlenhydraten, 3) hohen Feuchtigkeitsgrad.

Aber bei Vergleich der verschiedenen Culturen Nr. 1—22 stellen sich noch andere Bedingungen heraus. Bei saurer Beschaffenheit des Bodens (Cultur 14. 20) bilden sich gar keine Cysten, sondern *Penicillium*, *Arthrococcus* u. s. w., wird der Boden im Laufe der Cultur sauer (Culturen Nr. 3, 6, 9, 11, 17, 19), so hört die schon begonnene Cystenbildung sofort wieder auf. Ich habe in meinen »Gährungserscheinungen« gezeigt, dass die saure oder alkalische Reaction des Substrats abhängig ist vom Stickstoffgehalt. Uebersteigt dieser ein gewisses Quantum, so kann keine Säurebildung eintreten, die Reaction ist alkalisch. Die Cystenbildung hängt also in doppelter Hinsicht vom Stickstoffgehalt ab, erstlich, weil sie desselben zur Nahrung bedarf, und zweitens, weil sie durch Säure in der Ausbildung gehemmt wird. Ferner wird

aus den Culturen klar, dass die Cystensporen und ihr *Micrococcus* eine höhere Vegetationskraft besitzen als *Mucor* und *Penicillium*, denn es geht aus ihnen *Mucor* hervor auf einem Boden, welcher dieser Fruchtbildung nicht günstig ist. Sie haben also angeborene, d. h. in ihr Plasma übertragene Eigenschaften.

Ich habe früher[1]) nachgewiesen, dass *Penicillium* in Asien heimisch ist, und zwar ohne die geringste Ahnung davon zu haben, dass jener Pilz zur Cholera Beziehungen zeigen könne. In Asien würde die *Mykologie* gewiss mit Recht das *Penicillium* als einheimisch ansehen. Dazu kommt noch, dass die anaërophytische Fruchtform, nämlich *Tilletia*, nur auf dem Weizen, also auf einer aus Asien eingewanderten Pflanze vorkommt. Nimmt man also eine Pflanzenwanderung an, so hat man sicherlich diese ganze Species mit ihren fünf Generationen als einen Eindringling aus Asien anzusehen, denn die Cystenform kommt bei uns gar nicht vor, die *Tilletia* ist eingewandert, *Penicillium* kommt ausser bei uns, auch in Asien, vielleicht auf der ganzen Erde vor.

Wenn sich nun durch ferner mitzutheilende Culturversuche die Frage nach den thermischen Bedingungen der Cystenbildung bestimmt sollte beantworten lassen, so fragt sich weiter, ob sich nicht aus den Verwandtschaftsverhältnissen und aus der Form des Vorkommens der Cysten auf verschiedenen Substraten Gesichtspuncte gewinnen lassen, wodurch die Nachforschungen nach dem Vorkommen des Pilzes in Asien erleichtert werden. Ehe wir darauf weiter eingehen, mögen die genannten Culturen selbst besprochen werden.

IV. Culturen bezüglich der thermischen Bedingungen der Cystenbildung.

Cultur Nr. 23. *Penicillium* wurde am 8. Juni auf Fleisch ausgesäet, welches nach starkem Auskochen in Zuckerwasser im Culturapparat einer Wärme von 25—35° R. ausgesetzt wurde.

Das Fleisch löste sich langsam und fast völlig geruchlos auf. Es bildete sich eine so reiche Cystenvegetation aus den Keimlingen der *Penicillium*-Sporen, wie ich sie nur in den Cholera-Stühlen angetroffen. Die Kolonieen-Hefe, welche sich in einzelne *Micrococcus*-Zellen auf-

---

1) Landwirthschaftl. Versuchsstationen 1866. Ich bewies dort das Vorkommen des *Penicillium* in Hongkong.

löste, belagerte die Fleischfasern, und sie lösten sich nur, wenn sie mit diesen Zellen bedeckt waren, welche, wie in den Cholera-Stühlen, eine bräunliche Farbe hatten.

Am 10. setzte ich etwas Kleister hinzu, was die Energie der Cystenbildung noch vermehrte. Die Cultur wurde bisher fortgesetzt, um wo möglich sie zu Fütterungen zu benutzen.

Cultur Nr. 37. Auf Kleister mit weinsteinsaurem Ammoniak wurde im Culturapparat *Mucor racemosus Fres.* gezogen, und, als derselbe stark fructificirte, mit einem Stück Fleisch versehen, auf das Dampfbad gebracht.

Am 16. Juni zeigte sich in der Umgebung des breiartig erweichten, aber geruchlosen Fleisches eine reiche Cystenvegetation. Die Zersetzung des Fleisches ging unter starker *Micrococcus*-Bildung vor sich. Die Cultur wurde ebenfalls noch länger unterhalten.

Cultur No. 43. Im Isolirapparat (Flasche mit Aufsatzrohr) wurde bei 25—35° R. am 12. Juni *Penicillium*, auf Blut gesäet, angesetzt. Das Rindsblut war unmittelbar in die Flasche gelassen.

Bis zum 16. Juni ging das Blut unter Entwickelung von Cysten und *Micrococcus* in übelriechende Fäulniss über, ohne zu gerinnen. Die Cultur wurde am 16. desinficirt und beseitigt.

Cultur Nr. 44. Ein Stück frischen Dünndarms vom Rind wurde mit etwas Zuckerwasser und *Penicillium*-Sporen am 12. Juni einer Temperatur von 25—35° R. ausgesetzt.

Am 16. zeigten sich Cysten und *Micrococcus* am Darm, aber nur spärlich. Die Flüssigkeit reagirte sauer infolge zu starken Zusatzes von Zucker. Cultur fortgesetzt.

Cultur Nr. 39. Rindsblut wurde im Isolirapparat mit Cholera-Stuhl von Elberfeld bei 25—35° R. am 12. Juni angesetzt. Am 16. war das Resultat genau wie bei der Cultur Nr. 43. Apparat und Inhalt wurden starkem Feuer ausgesetzt.

Cultur Nr. 40. Frischer Rindsdarm (Dünndarm) wurde im Culturapparat, mit Elberfelder Cholera-Stuhl und etwas Zuckerwasser versetzt, am 12. Juni bei einer Temperatur von 20—22° R. angesetzt.

Am 16. starke Cystenbildung und sehr schöne *Micrococcus*-Kolonieen. Sehr wenig Geruch. Die Zersetzung der Darmelemente durch den *Micrococcus* eine ganz ähnliche wie im menschlichen Darm. Cultur fortgesetzt.

Cultur Nr. 41. Gekochter Rindsdarm (Dünndarm) wurde bei einer Temperatur von 25—35° R. ebenso behandelt. Das Resultat war genau dasselbe wie in der vorigen Cultur, nur ging die Zersetzung ungleich rascher vor sich.

Ziehen wir aus vorstehenden Culturen das Resultat, so besteht dasselbe einfach darin, dass *Penicillium* bei hohen Temperaturen, bei Temperaturen von mehr als 25° R. im Mittel, bei günstiger Ernährung im Stande ist, die Cystenpflanze unmittelbar durch Keimung seiner Sporen zu erzeugen. Bei gewöhnlicher Temperatur in unseren Breiten kann also die Cystenbildung nicht stattfinden, das haben meine früheren Culturen mit *Penicillium* und *Mucor* zur Genüge dargethan. Es kann also, wenn die Cysten und ihr *Micrococcus* mit dem Cholera-Contagium identisch sind, die Cholera nur unter in unseren Breiten ganz abnormen Verhältnissen autochthon auftreten, denn bei normalem Verhalten haben die *Penicillium*-Sporen keine Gelegenheit und Zeit, im Innern des menschlichen Körpers zur Keimung zu gelangen.

Es wird also unter gewöhnlichen Verhältnissen nur eine Uebertragung des Pilzes von Mensch zu Menschen, und im Hochsommer eine Fortpflanzung desselben in den Kloaken, sowie in allen faulenden Materien stattfinden können.

Wir haben schon gesehen, dass die *Urocystis*-Früchte und ihr *Micrococcus* auch ausserhalb des Körpers und schon bei Temperaturen zwischen 16 und 20° R. fortgepflanzt werden können. Es fragt sich nun, ob nicht auch diese Fortpflanzung eine Temperaturgrenze hat, welche hoch über dem Gefrierpuncte liegt, denn auch die erbliche Vegetationskraft der Cysten wird gewisse Grenzen ihrer Wirkung haben. Um darüber wenigstens annähernd in's Klare zu kommen, machte ich am 8. Juni folgenden Culturversuch:

Nr. 28. Ein wenig Rindfleisch mit Zuckerwasser wurde im Culturapparat mit Elberfelder Cholera-Stuhl einer Temperatur von 9° R. ausgesetzt.

Am 11. war das Fleisch noch fest; an der Oberfläche befand sich eine mit blossen Augen sichtbare *Mycoderma*, bestehend aus *Micrococcus*, an der Oberfläche *Leptothrix*-Ketten ausbildend. Um die Substanz der Cystenbildung noch günstiger zu machen, setzte ich eine Quantität Stärkekleister zu. Noch am 16. Juni zeigte sich die Substanz in Farbe und Geruch unverändert. Der Kleister reagirte schwach sauer und war erfüllt mit *Micrococcus*, *Cryptococcus* und *Arthrococcus*. Das Fleisch war noch ziemlich fest. Nur an der Oberfläche zersetzte es sich langsam unter dem Einfluss des bräunlichen *Micrococcus*. Von Cystenbildung wie überhaupt von irgend einer entwickelten Pilzform war keine Spur nachweisbar.

Es geht also aus den vorstehend mitgetheilten Culturen das Resultat hervor, dass die Cystenbildung, selbst bei Einfuhr von Asien her, unter einer Temperatur von 10° R. nicht im Stande ist, sich fortzu-

pflanzen, dass man also, wenn Cysten und *Contagium* identisch sind, ebensowohl Erniedrigung der Temperatur unter 10° R., als Erhöhung derselben über 50° R. als Desinfectionsmittel in Anwendung bringen könnte.

V. Culturen mit dem Cholera-Pilz in Bezug auf einige Desinfectionsmittel.

Aussaat Nr. 29. Zwei Cubikcent. gesättigte Eisenvitriollösung wurden mit sechs Gran Zucker, einem Stück gekochten Rindfleisches von Haselnussgrösse und 10 Tropfen Elberfelder Cholera-Reiswasserstuhl am 8. Juni im Isolirapparat einer Temperatur von 25 — 35° R. ausgesetzt.

Am 16. Juni war das Fleisch noch durchaus fest, und, abgesehen von der durch den Vitriol hervorgerufenen Veränderung, ganz intact. Von Pilzbildungen war gar nichts nachweisbar, ausser dem schon mit dem Cholera-Stuhl eingeführten *Micrococcus*. Die Fleischfasern waren ganz frei davon, und die in der Flüssigkeit, welche sauer reagirte, schwimmenden *Micrococcus*-Zellen hatten ein abgestorbenes Ansehen. Das Eisenvitriol ist also ein gutes Desinfectionsmittel, wenn das Cholera-*Contagium* mit dem Cysten-*Micrococcus* identisch ist.

Aussaat Nr. 30. Eine Drachme guter Rothwein wurde im Isolir-Apparat mit 1 Drachme Zucker, 1 Dr. Rindfleisch, 1 Dr. Wasser und 20 Tropfen Elberfelder Cholera-Stuhl einer Temperatur von 25—35° R. ausgesetzt.

Am 16. Juni war das Fleisch noch völlig fest und geruchlos. Pilzbildungen waren an demselben nicht nachweisbar. Ebenso wenig zeigte die noch klare Flüssigkeit Neubildungen von Pilzen. Es rechtfertigt sich also der Gebrauch des Rothweins bei der Cholera durchaus, wenn der Pilz das *Contagium* darstellt.

Aussaat Nr. 32. 1 Drachme gesättigte Lösung von Carbolsäure wurde am 9. Juni im Isolirapparat mit 1 Dr. Rindfleisch, 1 Dr. Zucker und 1 Dr. Wasser, sowie 20 Tropfen Berliner Cholera-Stuhl der Temperatur von 25—35° R. ausgesetzt.

Am 16. Juni zeigte die stark nach Carbolsäure riechende Flüssigkeit sich ziemlich klar, das Fleisch war etwas zerfallen und es hatte sich an einzelnen Stellen *Micrococcus* von brauner Farbe angesiedelt. Die Carbolsäure wirkt also wohl hemmend auf die Pilzvegetation ein, dürfte aber nach vorstehendem Resultat nicht zu den stärksten Desinfectionsmitteln gehören.

Aussaat Nr. 33. 1 Drachme Lösung von übermangansaurem Kali (10 Gran auf 6 Unzen Wasser) wurde im Isolirapparat mit 1 Dr. Fleisch, 1 Dr. Zucker, 1 Dr. Wasser und 20 Tropfen Berliner Cholera-Stuhl einer Temperatur von 25 — 35° R. ausgesetzt.

Vom 10. bis zum 16. Juni blieb die Flüssigkeit klar, geruchlos, zuletzt farblos, das Fleisch fest, ohne jede Spur von Pilzvegetation. Die Reaction war noch am 16. deutlich sauer. Am Kork befand sich eine reiche Vegetation von *Mucor racemosus Fres.* Der Versuch zeigt also, dass das übermangansaure Kali ein vortreffliches Desinfectionsmittel gegen den Pilz ist.

Aussaat Nr. 34. 1 Drachme guter starker Branntwein wurde mit ½ Dr. Rindfleisch, 1 Dr. Zucker, 1 Dr. Wasser im Isolirapparat einer Temperatur von 25—35° R. ausgesetzt.

Vom 10. bis zum 16. Juni blieb die Flüssigkeit klar; am 16. war noch deutlicher Branntweingeruch bemerklich, das Fleisch durchaus fest und intact, ohne jegliche Spur von Pilzbildung. Auch die Flüssigkeit zeigte keine Spur lebenskräftiger Pilzvegetation.

Aussaat Nr. 35. Am 10. Juni wurde 1 Theil gesättigter Lösung von kohlensaurem Natron, 2 Theile Kleister mit 40 Tropfen Berliner Cholera-Stuhl bei einer Temperatur von 25 — 35° R. im Isolirapparat angesetzt.

Am 16. Juni zeigte sich das Substrat stark alkalisch, der Kleister in langsamer Zersetzung begriffen, unter dem Einfluss von farblosem *Micrococcus*. Sonst war im Substrat keine Pilzbildung nachweisbar. Am Kork der Isolirflasche hatte sich dagegen *Penicillium* ausgebildet.

Die Cultur zeigt, dass die Cystenbildung gar nicht von der alkalischen Reaction direct, sondern vom Stickstoffgehalt abhängt, wogegen frühere Culturen gezeigt haben, dass starke Säurebildung ihr schädlich ist.

Cultur Nr. 38. 20 Tropfen Opiumtinctur wurde mit 20 Tropfen Elberfelder Cholera-Stuhl, einem haselnussgrossen Stück Rindsdarm und 1 Dr. Zuckerwasser im Isolirapparat einer Temperatur von 25 — 35° R. ausgesetzt.

Vom 12. bis zum 16. Juni ging der Flascheninhalt in Fäulniss über. Beim Oeffnen des Apparats zeigte sich ein eigenthümlicher Geruch, die jauchige braune Flüssigkeit reagirte alkalisch und war erfüllt von *Micrococcus*. Hie und da zeigten sich einzelne Cysten. Der Darm befand sich in langsamer Zersetzung unter dem Einfluss des *Micrococcus*.

Es zeigt die Cultur, welche sogleich desinficirt wurde, dass das Opium nicht desinficirend auf den Cholerapilz einwirkt.

Cultur Nr. 36. 1 Drachme Fleisch, 2 Gran *Chinium sulphuricum acidulum*, 1 Dr. Wasser, 2 Dr. Stärkekleister wurden mit 20 Tropfen

Cholera-Stuhl am 11. Juni im Isolirapparat der Temparatur von 25—35° R. ausgesetzt.

Am 16. Juni reagirte das Substrat schwach sauer, das Fleisch war durchaus fest und intact, der Kleister zeigte sich ganz unverändert, nur waren die Körner meist zu 10—12 in grosse Ballen zusammengeklebt. Ausser schwacher farbloser *Micrococcus*-Bildung und etwas *Arthrococcus* an der Oberfläche fehlte jede Pilzbildung.

Es zeigt also dieser Versuch, dass man das *Chinium sulphuricum acidulum* ganz rationell als innerliches Desinfectionsmittel gegen den Pilz in Anwendung bringen kann, nur wird man schwerlich genügend grosse Quantitäten in den Körper einführen können[1]).

Cultur Nr. 31. 1 Drachme Gerbsäure, 1 Dr. Rindfleisch, 1 Dr. Zucker, 2 Dr. Wasser wurden mit 20 Tropfen Berliner Cholera-Stuhl am 9. Juni im Isolirapparat einer Temperatur von 25—35° R. ausgesetzt.

Am 16. Juni reagirte die Substanz sauer, das Fleisch war fest, braun, an einzelnen Stellen mit *Micrococcus* bedeckt, die trübe Flüssigkeit enthielt zahlreiche grosse *Arthrococcus*-Zellen.

Es kommt demnach wahrscheinlich ein grosser Theil der desinficirenden Wirkung des Rothweins auf Rechnung der Gerbsäure.

Jetzt sei zunächst ein kurzer Rückblick auf die soeben in ihren Resultaten mitgetheilten Culturen vergönnt.

Das aus allen Desinfectionsculturen sich ergebende Prineip ist: Ansäuerung der Flüssigkeit.

Leider muss man hier von den Grundvorstellungen beginnen, weil selbst einige berühmte Chemiker und Physiologen von den Grundlagen der Desinfection allzu kindliche Vorstellungen haben. Ich will hier keine Namen nennen, denn es kommt nur darauf an, das falsche Princip zu bekämpfen.

Bei der Desinfection kann man, sofern sie gegen pflanzliche Organismen gerichtet ist, zweierlei im Auge haben. Entweder sucht man die Vegetation völlig zu vernichten, die einzelnen Zellen geradezu zu zerstören, keimungsunfähig zu machen. Diese Methode ist scheinbar die beste, aber nur scheinbar. Man könnte zwar die Pflanzen z. B. durch kaustische Alkalien oder concentrirte Mineralsäuren geradezu tödten, aber in dem hier angeregten Fall, wo es sich um die Hemmung der Fäulniss einer stickstoffreichen Substanz handelt, wäre diese Methode höchst unpraktisch. Es würden ausserordentlich grosse Mengen

1) Mein Schwager, der Herzogliche Leibarzt Dr. Hassenstein in Gotha, hat in der vorjährigen Epidemie in der That China-Decokt in Form von Klystieren mit Erfolg angewendet.

jener kaustischen Substanzen in Anwendung kommen müssen, wenn die Vernichtung der Pilzvegetation radical sein sollte, denn in verdünnten Säuren und Alkalien vegetiren manche Pilze recht üppig. Es ist aber dieses Verfahren eine unverantwortliche Verschwendung, wenn man mit einem einfacheren und weniger kostspieligen ausreicht. Das ist nun in der That nicht nur möglich, sondern es geschieht wirklich. Des Herrn von Pettenkofer Vorschlag, die mit Cholera-Pilzen inficirten Substanzen durch Ansäuerung zu desinficiren, ist durchaus principiell richtig und alles, was man dagegen angeführt hat, beruht auf ganz falschen Ansichten von der Pilzvegetation. Wer diese aber nicht wenigstens in ihren einfachsten Grundlagen kennt, der ist gänzlich incompetent in der Desinfectionsfrage und wäre er auch noch so bedeutend als Chemiker oder Physiolog.

Ich habe von Desinfections-Versuchen gehört, welche so angestellt wurden, dass man die inficirte Materie mit dem zu prüfenden Desinfectionsmittel versetzte, nach einiger Zeit etwas von der Materie in eine gährungsfähige Masse übertrug und, wenn diese in Gährung gerieth, das Desinfectionsmittel für unbrauchbar erklärte. Die Versuche solcher Art ruhen auf einer ganz falschen Grundlage und können daher nur verwirren, keineswegs die Frage ihrer Lösung näher bringen.

Es kommt gar nicht darauf an, die Pilzvegetation zu vernichten, sondern nur, sie unschädlich zu machen, d. h. in unschädliche Formen überzuführen.

Wir haben oben gesehen, dass schon die saure Reaction des Magensaftes bei den Cholera-Kranken *Penicillium*, also eine jedenfalls hier unschädliche Pilzvegetation zur Ausbildung bringt. Ebenso entstand nur *Penicillium* auf den Citronen. Alle sauren Culturen zeigten *Arthrococcus* und keine Cysten und *Micrococcus*-Kolonieen. Ich habe die Desinfectionsversuche bei einer Cultur von 25—35° R. vorgenommen, also bei derjenigen Cultur, welche der Cystenbildung am günstigsten ist und doch mit allen sauren Mitteln so günstige Resultate erhalten. Es kommt also nicht darauf an, ob im Desinfectionsmittel die Pilze getödtet werden, vielmehr darauf, ob bei Zusatz einer bestimmten Quantität stickstoffreicher Materie irgend eine Form der ammoniakalischen Gährung zur Ausbildung kommt. Ist das der Fall, so taugt das Desinfectionsmittel nichts zur Entfernung der Pilzvegetation.

Es kommt aber noch dazu, dass Alkohol und Säuren jede Vegetation hemmen, selbst diejenige, durch welche sie ausgebildet wurden.

Der Alkoholgehalt der geistigen Getränke entsteht durch den Einfluss des *Cryptococcus*. Uebersteigt aber der Alkoholgehalt einen bestimmten Grad der Concentration, so bildet sich gar kein *Cryptococcus*

mehr aus und bei noch grösserer Steigerung des Gehalts tödtet sogar der Alkohol die Pilze. Genau so verhält es sich mit der Milchsäure und Essigsäure. Beide Säuren entstehen unter dem Einfluss einer *Arthrococcus*-Vegetation. Im concentrirten Zustande tödten sie aber dieselbe Vegetation, durch die sie erzeugt wurden. Der *Arthrococcus lactis* wird sogar schon durch einen sehr geringen Ueberschuss von freier Milchsäure gehemmt. Daher kann der Chemiker grössere Mengen von Milchsäure nur dadurch gewinnen, dass er die freie Säure beständig durch Kreidezusatz bindet.

Ich habe in meinen »Gährungserscheinungen« gezeigt, dass jeder *Micrococcus* auf dem entsprechenden Boden zum *Cryptococcus* oder *Arthrococcus* wird.

Die oben mitgetheilten Culturen haben ergeben, dass das auch mit dem *Micrococcus* der Cholera-Cysten der Fall ist. Es kommt also bei der Desinfection, sofern sie sich gegen den Pilz richtet, darauf an, den *Micrococcus* zur Bildung von *Arthrococcus* zu veranlassen und das geschieht durch einen Ueberschuss von Säure sofort.

Für die Desinfection im Grossen steht das Eisenvitriol in praktischer Beziehung obenan. Die Carbolsäure kann man nicht unbedingt empfehlen. Für Desinfection im Kleinen hat das übermangansaure Kali die stärkste Wirkung. Dass das Eisenvitriol der Cholera an manchen Orten nicht genügend hemmend entgegentrat, liegt zuverlässig nicht an diesem vortrefflichen Desinfectionsmittel selbst, sondern an der Unmöglichkeit, den Boden zu desinficiren und die Kloaken luftdicht zu machen. Die Stühle müssen, wenn die Desinfection wirksam sein soll, schon vor dem Stuhlgang der Cholera-Kranken Desinfectionsmaterial in einer für alle Fälle ausreichenden Menge enthalten. Es muss hier aber wiederholt werden, dass man Fortschritte im Grossen nur dann erreichen wird, wenn das ganze Jahr hindurch desinficirt wird oder wenn, was das Richtigste ist, zu allen Zeiten überall der Kloakeninhalt täglich in luftdichten Latrinen auf die Felder gebracht und dort sofort ausgebreitet wird.

Zaghaft füge ich hinzu, ob es nicht rathsam sei, innerlich gegen den Cholera-Pilz starke spirituöse Getränke, auch namentlich in Form von Klystieren, ferner *Chinium sulphuricum* und als gewöhnliches Getränk starken Rothwein zu verordnen.

Ich will nicht unterlassen, bei dieser Gelegenheit dankbar des schönen Kräuter-Liqueurs zu erwähnen, welchen Herr Apotheker C. Th. Lappe in Neu-Dietendorf bei Erfurt unter dem Namen »ächter *Aromatique*« verkauft und welcher mir bei dieser Arbeit so treffliche Dienste geleistet hat.

Nun ist ferner noch eine wichtige Frage zu beantworten, bevor man sich der Lösung der Frage nach dem Ursprung des Cholera-Pilzes direct zuwenden kann.

Es fragt sich nämlich, wie und wo kommt jene Cystenbildung in der Natur vor. Dieser so sehr wichtigen Frage wollen wir einen besonderen Abschnitt widmen.

VI. Unter welchen Verhältnissen vegetirt der Cholera-Pilz in Indien?

Leider sind wir zur Zeit völlig ausser Stande, diese Frage auch nur annähernd sicher zu beantworten. Wir können nichts thun, als gewissenhaft erwägen, auf welche Puncte man in's künftige sein Augenmerk zu richten habe, um womöglich den Cholera-Pilz in seiner Heimath zu entlarven. Für diese Erwägung haben wir allerdings einige Anhaltspuncte.

Die Cystenbildung des oben geschilderten Pilzes erinnert unmittelbar an diejenige bei *Urocystis occulta Rab.* Aber auch die Hefebildungen beider Pilzformen sind einander überaus ähnlich. Ich habe auf der beigegebenen Tafel Figur 34 die Ausbildung der *Micrococcus*-Kolonieen durch die Conidien des keimenden *Urocystis* angedeutet. Alle *Ustilagineen*, die ich bisher untersuchte, bilden in nassen stickstoffreichen Medien Kolonieen – *Micrococcus*. Die Auffindung solcher Kolonieen in den Cholera-Stühlen konnte daher zur Lösung der Frage kaum etwas beitragen, denn ganz ähnliche Kolonieen bilden unsere gemeinen *Ustilagineen*-Formen wie: *Tilletia*, *Ustilago* u. s. w. im Darme völlig gesunder Menschen, wenn sie zufällig hinein gelangen.

Das braune zerbrechliche *Mycelium* in denjenigen Culturen, welche, wie z. B. Nr. 4 das richtige Verhältniss zwischen breiartigem Kohlenhydrat (Stärkekleister) und stickstoffreicher Materie darboten, die braunen Cysten unter ähnlichen Verhältnissen u. s. w. zeigten deutlich genug, dass wir es mit einer *Ustilaginee*, d. h. mit einem Schmarotzer zu thun haben, welcher Pflanzengewebe bewohnt.

Die einzige Pilzform, mit der wir die Cysten vergleichen können, ist *Urocystis*. Diese bewohnt stickstoffreiche, d. h. jugendliche, also plasmareiche Gewebetheile von Gräsern: Sollte nicht die Cyste der Cholera ebenfalls eine Grasart bewohnen?

Wir haben zu dieser Frage noch weit grössere Berechtigung, wenn wir bedenken, dass *Tilletia* eine Generation bildet, welche mit den

Cholera-Cysten zur nämlichen Species gehört. *Tilletia* ist mit dem Weizen aus Asien eingewandert, denn sie kommt auf anderen Gräsern nicht vor. Es liegt also der Gedanke ziemlich nahe, das die Cystenfrucht in Asien auf einer *Gramineen*-Species vorkomme.

Nun haben wir ganz bestimmte Fingerzeige in der Literatur für diejenige Grasart, auf welche die Untersuchungen ihr Augenmerk zu richten haben. Tytler nennt seine Schrift über die Cholera geradezu »*Morbus oryzeus*«. Die anfangs unter dem Namen »*mort de chien*«, Hundstod [1]), bekannte Krankheit wurde schon, bevor sie Europa erreichte, mit einer Krankheit der Reispflanze in Verbindung gebracht. Es heisst in einer deutschen Zeitschrift [2]) vom Jahr 1826 folgendermassen:

»Diese Krankheit, die in einzelnen Districten der Halbinsel auch schon in anderen Jahren vorkam, und *Mort de chien* genannt wurde, brach im Sommer 1817 nach einer ungesunden Reisernte und einer schon seit zwei Jahren sehr anomalen Witterung, mit ungewöhnlich anhaltenden Ostwinden, am unteren Ganges, besonders zu Jessore, wo sie zuerst einen tüchtigen Beobachter und Berichterstatter fand, aus, und verbreitete sich noch in demselben Spätjahre vom Ausfluss des Ganges bis zu dessen Vereinigung mit dem Yumna, im folgenden aber bis Delhi und Saharunpore«.

Das Referat zeigt nun, wie die Krankheit durch den menschlichen Verkehr von Ort zu Ort, von Land zu Land verbreitet wurde. Sicherlich wird es also der Mühe lohnen, zu untersuchen, ob der Reis in Indien einen anaërophytischen Pilz beherbergt, welcher mit dem *Urocystis cholerae* identisch ist und vielleicht die Ursache der Cholera. Diese Frage kann man in zweifacher Weise in Angriff nehmen. Erstlich durch Nachforschungen in Indien. Diese hat der Herr Geheime Medicinalrath Griesinger freundlichst eingeleitet. Zweitens durch Aussaat von Reis mit dem Cholera-Material oder durch Versuche, den Cholera-Pilz auf die Reispflanze zu übertragen. Diesen experimentellen Weg habe ich durch folgende Culturen betreten:

Nr. 24. Am 8. Juni wurden 5 Reispflanzen in Cultur genommen, um womöglich zur Blüthezeit den Cholera-Pilz darauf zu übertragen.

Nr. 25. Am 8. Juni wurde *Oryza sativa* ausgesäet und mit Berliner Cholera-Stuhl begossen.

Nr. 26. Am 8. Juni wurde *Oryza sativa* ausgesäet und mit Elberfelder Cholera-Stuhl begossen.

---

1) Gallerie der Welt. Berlin, 1806. Bd. II. p. 126.

2) Literarische Blätter der Börsenhalle. Hamburg, 1826. Nr. 54. p. 187.

Nr. 27. Am 8. Juni wurde *Oryza sativa* ausgesäet und mit Erbrochenem von Elberfelder Cholera-Kranken begossen.

Es versteht sich von selbst, dass ein abschliessender Bericht über diese Culturen einer späteren Gelegenheit vorbehalten bleiben muss. Indessen will ich wenigstens dasjenige dem Leser nicht vorenthalten, was sich bis jetzt aus den Culturen ergeben hat.

Dieselben stehen in einem nach Süden gelegenen Fenster bei einer Temperatur von 16—20° R. Sie werden, wie es bei Reiscultureu üblich und nothwendig ist, sehr nass gehalten. In allen Culturen hatten sich am 11. Juni die Keimlinge über den Boden erhoben. In der Cultur Nr. 27 waren sie am meisten entwickelt, daher untersuchte ich diese zuerst. Vorsichtig unverletzt ausgehobene Keimlinge zeigten ein einfaches kräftiges Würzelchen und die dritte Blattscheide war im Begriff, sich zu entfalten. Die Pflänzchen erschienen vollkommen gesund.

Dünne Längsschnitte zeigten, dass am oberen Ende der Wurzel und dicht über deren Ansatzpunct an mehren Stellen zarte glänzende Pilzfäden in Menge die Oberhautzellen durchbohrt hatten. Sie waren schon bis tief in das innere, zartwandige Parenchym vorgedrungen, wo sie von Zelle zu Zelle gewandert waren, ausserdem auch die Intercellularräume zur Wanderung benutzt hatten. In den von ihnen durchbohrten Zellen war das zarte Plasma eingeschrumpft und grobkörnig. Auf Zusatz von Glycerin zeigte sich in den Zellen eine grosse Menge von *Cryptococcus*. Ich habe schon früher nachgewiesen, dass *Urocystis occulta Rab.* ganz ähnlich in den Getreidekeimling einzudringen vermag und innerhalb der Zellen *Cryptococcus* ausbildet. Die Cultur Nr. 26 zeigte genau dasselbe Verhalten. Es hingen oft Fäden aus dem zerschnittenen Gewebe hervor in der Länge von 10 — 12 Parenchymzellen. Die Oberhaut war äusserlich in der Nähe des Wurzelansatzes überall mit keimenden, conidienartigen Pilzzellen besetzt, namentlich auch am oberen Wurzelende an der Basis der Saughaare.

Natürlich beweist dieses Resultat noch keineswegs, dass der eingedrungene Pilz mit der Cystenpflanze identisch ist, noch weniger, dass er die Cysten irgendwo an der Pflanze zur Entwickelung bringen wird. Die Thatsache, dass nach Aussaat des Reises mit dem Cholera-Stuhl in denselben eine anaërophytische Pilzform eindringt, ist aber immerhin wichtig genug, um hier nicht unerwähnt zu bleiben.

Höchst merkwürdig sind die Folgerungen, die sich aus der Art des Vorkommens der Cysten bei der Cholera ergeben. Wenn, wie aus meinen Culturen evident hervorgeht, die Cystenbildung von der hohen Temperatur des indischen Klima's abhängig ist, so muss man den ganzen Pilz mit allen seinen Generationen als tropisch ansehen. Dieser

tropische Pilz ist im Stande, sich in denjenigen Generationen, welche einer mässigeren Stickstoffaufnahme bedürfen, bis in die höheren Breiten fortzupflanzen, während die Cysten-Form, welche an hohe Stickstoffaufnahme gebunden ist, nicht bei uns heimisch wird. Es ist dieses Beispiel wohl das erste für die Pflanzenwelt, welches die Möglichkeit des Verschwindens einzelner Formen von der Erde oder aus einzelnen Gegenden derselben ansehaulich macht. Wenn die Erdtemperatur bis zu einem gewissen Grad auch in den Tropengegenden abnähme, so würde die Cystenbildung verschwinden. Man würde nur noch die übrigen Generationen dieses Pilzes auffinden und wenn es gelänge, in älteren Erdschichten jene Cysten nachzuweisen, so würde man diese für eine ausgestorbene Art erklären. Können nicht auf analoge Weise manche sogenannte Arten von der Erde verschwunden sein? Ich kann mich nicht enthalten zu glauben, dass dieses Factum, wenn es sich auch bei anderen Pilzen bestätigen sollte, neue Gesichtspuncte für die Entwickelung der Formen auf der Erde darbieten wird.

VII. Fütterungsversuche.

Diese bezweckten zunächst zu untersuchen, ob gewisse Hefebildungen, welche die *Ustilagineen*-Formen in stickstoffreichen Flüssigkeiten entwickeln, auch im Darme vorkommen. Ich habe in verschiedenen Arbeiten[1]) gezeigt, dass mehre, vielleicht alle *Ustilagineen* in solchen Flüssigkeiten Kolonieen-*Micrococcus* zur Ausbildung bringen, welche dem von Klob und Thomé in den Cholera-Dejectionen gefundenen durchaus gleichen, dass daher das blosse Auffinden solcher Formen ohne Züchtung des Pilzes, aus dem sie hervorgehen, die Frage nach dem Cholera-Contagium ihrer Lösung kaum um einen Schritt näher bringen konnte. Es ist mir nun durch Fütterungen, welche vom 13. bis zum 22. Mai in Berlin an einem Affen (*Cercopithecus*) vorgenommen wurden, gelungen, zu zeigen, dass *Tilletia caries Tul.* im Affendarm die Hefekolonieen zur Ausbildung bringt, welche ich früher in stickstoffhaltigen Flüssigkeiten aus *Tilletia* gezogen hatte[2]), dass ferner *Rhizopus nigricans Ehrenb.* im Affendarm denselben *Micrococcus* erzeugt wie in stickstoffhaltigen Flüssigkeiten, dass endlich drittens auch *Aecidium euphorbiae Micrococcus*-Kolonieen im Darm des Thieres erzeugt, wie man sie

1) Landwirthschaftl. Versuchsstat. 1867. Nr. 4. 5.
2) Landwirthschaftl. Versuchsstat. 1867. Nr. 5.

in einer stickstoffhaltigen Flüssigkeit züchtet. Von allen drei Pilzen, welche dreien ganz verschiedenen Gruppen entsprechen, wird also *Micrococcus* ausgebildet. Die Formen sind zwar verschieden, jedoch möchte es zur Zeit unmöglich sein, einen Pilz zu bestimmen, wenn man nichts weiter von ihm kennt als seinen *Micrococcus*. Fütterungen, welche ich gegenwärtig eingeleitet habe, sind noch sehr wenig zum Abschluss gediehen, dass ich ihre Ergebnisse erst später mittheilen kann. Die genaue Beschreibung der vorhin erwähnten Hefeformen im Affendarm behalte ich mir ebenfalls vor.

VIII. Ist der Cholera-Pilz mit dem Cholera-Contagium identisch?

Diese Frage muss ebenfalls noch offen bleiben oder kann wenigstens nur sehr hypothetisch beantwortet werden.

Ist überhaupt das Contagium etwas Pflanzliches, dann ist es mindestens höchst wahrscheinlich, dass die Cysten die Ursache der Cholera sind, denn es wurde in allen Culturen nichts gewonnen, was nicht in den Generationswechsel dieser einen Pflanze gehörte.

Nun bedenke man, dass der Pilz nur in hoher Wärme gedeiht, dass er wahrscheinlich von Indien eingewandert und man wird fast versucht, ihn mit dem Contagium zu identificiren. Aber bewiesen kann die Sache nur durch Fütterungen werden und leider wohl nur durch Fütterungen an Menschen.

Ich darf hier daran erinnern, dass einzelne Fütterungsversuche gar nichts nützen. Es müssen von denselben Thierarten hunderte von Individuen bei verschiedener Nahrung und verschiedener körperlicher Disposition gefüttert werden. Die Fütterungen mit den Cholera-Stühlen selbst beweisen auch im günstigsten Fall noch nicht die Identität von Pilz und Contagium, denn selbst die stärkste Entwickelung der Pilze im Darm würde den Einwand, der Pilz sei nur Folge einer durch chemisches Contagium hervorgerufenen Darmaffection und mit jenem chemischen Stoff eingeführt, nicht ganz beseitigen. Man muss also füttern mit dem Pilze, den man bei hoher Temperatur aus *Penicillium* erzogen hat.

Bekanntlich sind z. B. die Fütterungsversuche an Hunden zu ganz verschiedenen Ergebnissen gelangt. Weber in Halle sah die mit Cholera-Stuhl gefütterten Hunde gar nicht erkranken, während J. Müller mir versicherte, dass die von ihm gefütterten Hunde an einer der Cholera

höchst ähnlichen Erkrankung gestorben seien. Es ist also offenbar eine individuelle Disposition vorhanden und eben daher sind grosse Reihen von Fütterungen unerlässlich. Es ist sehr leicht möglich, dass auch Menschen, wenn man sie mit Cholera-Stühlen fütterte, bisweilen von der Cholera verschont blieben, man müsste in solchem Fall den Menschen überhaupt für unempfänglich halten mit demselben Recht wie in jenem Fall den Hund.

Das wichtigste Factum für die Beurtheilung des Pilzes in seinem Verhältniss zum Contagium ist die nicht nur energischere, sondern ganz andere, fast geruchlose, Zersetzung der stickstoffhaltigen Materien durch den Cysten-*Micrococcus* bei hoher Temperatur. Ferner ist höchst wichtig, dass der Darm, zunächst das Epithel desselben wirklich solchergestalt durch den *Micrococcus* zersetzt wird. Bedenkt man nun, dass die Cholera in ihrer letzten Ursache durch die Zerstörung des Darmepithels hervorgerufen wird, so hat man eigentlich kaum nöthig, nach einem von dem *Micrococcus* der Cysten verschiedenen Contagium zu suchen.

Möchten doch die vorstehenden Zeilen zur Vertilgung des Ungeheuers von der Erde einen kleinen Beitrag darbieten!

Erklärung der Figuren.

Tafel I.

Alle Figuren mit einem Zeiss'schen Instrument, System *F.*, Ocular 2 gezeichnet.

Figg. 1—4. Pflanzliche Vorkommnisse in den Cholera-Dejectionen (Reiswasserstuhl) von Berlin 1866.

1. Gruppen stark aufgequollener, gelatinöser Sporen, im Begriff, im Innern durch wiederholte Theilung des Kerns *Micrococcus* zu bilden. Die Sporen sind von *Micrococcus*-Zellen umgeben.
2. Gelatinös aufgequollene und zerfallende Cysten. *c* eine kleine Cyste mit deutlichen Sporen, *l* eine gelatinöse Cyste, schon unvollständig, *h* eine Cystenwand nach Entleerung der Sporen.
3. Hefebildungen; *m* eine grosse, einer Spore entsprechende *Micrococcus*-Kolonie, *b* eine desgleichen schon zerfallene, *k* eine Gruppe von Kolonieen, aus den Sporen einer Cyste entstanden, *t Torula*-artige Zellen, aus aufgequollenem und vergrössertem *Micrococcus* hervorgegangen.
4. *u* mehre Cysten, im Zusammenhang mit einander, *o* eine grosse kugelige Cyste, welche ihre Sporen entlässt, *a* eine halbirte Spore mit beginnender *Micrococcus*-Bildung, *b* eine desgleichen in Viertheilung, *c* ein Sporenhäufchen aus einer kleinen Cyste.

Figg. 5—12. Vorkommnisse in der Cultur Nr. 1, Berliner Reiswasserstuhl von 1866 auf Zuckerlösung.

5. *Micrococcus*- und *Torula*-Bildungen.
6. Keimung der *Torula*-Zellen.
7. Fadenende eines kräftigen Keimlinges, *m* = *Macroconidien*, *c* = Cysten, *dc* = degenerirte Cysten.
8. Vollkommen ausgebildete Cyste mit Sporen, deren eine im Begriff ist zu keimen (*k*).
9. 10. Cysten, bei *a* eine im Anfang der Theilung.
11. Grosse Zelle, scheinbar durch Copulation entstanden.

12. Grosser Zweig mit *Macroconidien* in Ketten (*mk*), degenerirten Cysten (*dc*), cystenartigen Ketten (*kk*) und Uebergangsformen zwischen beiden (*dck*).

Figg. 13—15. Vorkommnisse in der Cultur Nr. 3; Berliner Cholera-Reiswasserstuhl von 1866 auf Kleister.

13. *Micrococcus*- und *Leptothrix*-Ketten.

14. *Micrococcus*, im Begriff *Cryptococcus* und *Arthrococcus* zu bilden.

15. Blasenartig aufgetriebene Fadenglieder der *Macroconidien*-Pflanze.

Figg. 16—30. Vorkommnisse in der Cultur Nr. 4 auf Kleister und weinsteinsaurem Ammoniak.

16. *Micrococcus* und *Leptothrix*.

17—20. Cysten, bei 19 noch am Faden, 20 *a—c* stellt verschiedene Entwickelungszustände der Sporen bis zum Zerfallen der Cyste dar.

21. 22. Bruckstücke des *Mycelium*.

23. Mycelfaden mit einer jungen Cyste (*c*) und *Macroconidien* (*m*).

24. Eine grosse abgeworfene Cyste mit deutlicher Wand.

25. Schönes Fruchtexemplar mit jungen (*ic*) und älteren (*c*) Cysten.

26. Exemplar mit Wurzelfäden.

27. Exemplar mit geplatzter *Mucor*-Kapsel (*mc*) und Cysten (*c*), zum Theil undeutlich (*dc*).

28. Cyste mit einer ausgekeimten Spore.

29. Fadenbruchstück mit Zweigen, welche einzelne *Conidien* tragen.

30. *Conidien*-tragende Pflanzen, das Keimungsproduct der Sporen aus den Cysten (*sp*), bei *p* eine mit einem Epispor versehen.

Figur 31. *ag*. Cysten und aus ihnen hervorgehende *Micrococcus*-Kolonieen in der Cultur Nr. 5.

Figg. 32. 33. Cysten der Cultur Nr. 8.

32. Cyste im Begriff zu keimen.

33. Ganz aus Cysten bestehendes Exemplar.

Fig. 34. Hefebildung der Keimlinge von *Urocystis occulta Rab.* *a* der Keimling mit *Conidien* (*o*), zum Theil *Micrococcus* ausbildend, *x* *Micrococcus*-Kolonie, in Zweitheilung begriffen, *y* eine desgleichen in Viertheilung, *z* eine mehrfach getheilt.

Druck von Breitkopf und Härtel in Leipzig.

1.
2.
3.
4.
5.
6.
7.
8.
9.
10.
11.
13.
12.
14.
15.
16.
17.
18.
19.
20.
21.
22.
23.
24.
25.
26.
27.
28.
29.
30.
31.
32.
33.
34.
Wagenschieber